



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola Superior d'Enginyeries Industrial,
Aeroespacial i Audiovisual de Terrassa

ESEIAAT

Grau en Enginyeria en Tecnologies Industrials

PROJECTE DE MILLORA DEL SISTEMA D'ENFOCAMENT D'UN MICROSCOPI DE BAIX COST

MEMÒRIA

Autor: Oriol Rabasa Galan

Director: David González Díez

Curs: 2019-2020 Q2

Data lliurament: 30 de Juny del 2020



Declaració d'honor

I declare that,
the work in this Degree Thesis is completely my own work,
no part of this Degree Thesis is taken from other people's work without
giving them credit,
all references have been clearly cited,
I understand that an infringement of this declaration leaves me subject to the
foreseen disciplinary actions by *The Universitat Politècnica de Catalunya -
BarcelonaTECH*.

Oriol Rabasa Galan

30/06/2020

Student Name

Signature

Date

Title of the Thesis: Projecte de millora del sistema d'enfocament d'un microscopi
de baix cost

Resum

AIScope és un projecte sense ànim de lucre que consisteix en un microscopi òptic de baix cost per diagnosticar malalties infeccioses en països amb pocs recursos.

Aquest projecte està enfocat en millorar el sistema d'enfocament del microscopi AIScope per tal de reduir el temps d'obtenció de les imatges de la mostra. Les fotografies obtingudes amb el microscopi serviran per fer el diagnòstic de la mostra i detectar si el paràsit de la malària hi és present.

El nou sistema d'enfocament s'ha desenvolupat des de dues visions diferents. La primera ha consistit a afegir sensors al microscopi per poder apropar al màxim la mostra a l'objectiu, fet que accelera el procés d'enfocament. Se seleccionaran dos tipus de sensors, un per apropar la mostra a l'objectiu i l'altre per millorar l'automatització del microscopi. D'altra banda, es desenvoluparà un nou mètode que permeti enfocar la mostra a més velocitat i solucioni els problemes de l'anterior versió del microscopi.

Per aconseguir reduir-ne el temps, s'exploraran diferents mètodes i s'analitzarà amb profunditat el programa actual. Aquest nou mètode d'enfocament es programarà en codi Python i s'implementarà en una placa Raspberry Pi, on també es connecten els sensors.

Amb totes les millores desenvolupades s'ha assolit l'objectiu principal, el qual ha estat el d'escurçar el temps per obtenir les fotografies de la mostra. A més, el nou sistema és més precís i permet enfocar tota mena de mostres. Tot i això, el projecte AIScope no acaba aquí, sinó que ha de seguir evolucionant per aconseguir un microscopi capaç de donar solució al problema de la malària.

Abstract

AIScope is a non-profit project based on a low-cost microscope to diagnose infectious diseases for countries without proper medical resources.

This project focus on improving the AIScope microscope focusing system to cut time on getting sample pictures. Pictures taken with AIScope microscope will be used to diagnose a patient blood sample and detect malaria parasite.

A new focusing system will be developed in two different perspectives. On the one hand, sensors will be added to approach the sample to the objective, which will accelerate the focusing process. Two types of sensors will be chosen, the first one to approach the sample to the objective and the second one to improve the automation of the microscope. On the other hand, a new focus method will be developed as to make possible a faster sample focus. Also, all the problems of the last microscope model will be sorted out.

For the purpose of reducing focus time, different methods will be explored and a further analysis of the current microscope will be held. This new focus method will be programmed in Python and will be implemented on a Raspberry Pi board, where sensors will be connected to

All this measures to improve AIScope microscope resulted in the achievement of the main aim of the project, reducing focus time. Furthermore, this new focus system is more precise and allows to focus pictures of all types of samples. Nevertheless, AIScope project doesn't finish here because it has to evolve so that the last microscope design meets the needs to help in the malaria problem.

Sumari

Declaració d'honor.....	I
Resum.....	II
Abstract.....	III
1. INTRODUCCIÓ.....	11
1.1. Objecte del treball.....	11
1.2. Abast el treball.....	11
1.3. Requeriments del treball.....	12
1.4. Utilitat del treball.....	13
1.5. Planificació del projecte.....	15
2. ANÀLISI DEL PROTOTIP ACTUAL.....	17
2.1. Introducció.....	17
2.2. Funcionament d'un microscopi òptic.....	17
2.3. Microscopi AIScope: Parts i materials utilitzats.....	19
2.4. Anàlisi del software del prototip actual.....	23
2.4.1. Funcionament del programa actual.....	23
2.4.2. Problemes presentats del prototip actual.....	27
2.4.3. Operacions crítiques del programa actual.....	29
2.4.4. Conclusions de l'anàlisi del prototip actual.....	33
3. INVESTIGACIÓ I SELECCIÓ D'ALTERNATIVES.....	34
3.1. Introducció.....	34
3.2. Algoritme d'enfocament.....	34
3.2.1. Sistemes per enfocar automàticament.....	34
3.2.2. Generalitats dels algoritmes d'enfocament.....	36
3.2.3. Algoritmes Estadístics.....	41
3.2.4. Algoritmes Derivatius.....	43
3.2.5. Algoritmes basats en l'histograma.....	47
3.2.6. Comparació de les diferents alternatives.....	48
3.2.7. Selecció algoritme d'enfocament.....	51
3.3. Sensors.....	52
3.3.1. Comparació alternatives de sensors.....	52
3.3.2. Selecció sensors.....	57
4. DESENVOLUPAMENT NOU PROTOTIP I SOFTWARE.....	60
4.1. Introducció.....	60
4.2. Implementació sensors de posició.....	61

4.2.1. Funcionament i connexió dels sensors de posició.....	61
4.2.2. Ubicació dels sensors de posició al microscopi.....	62
4.3. Implementació sensor d'apropament.....	67
4.3.1. Funcionament i connexió del sensor d'apropament.....	67
4.3.2. Ubicació del sensor d'apropament al microscopi.....	68
4.4. Disseny final del nou prototip.....	73
4.5. Procés automàtic d'obtenció de fotografies.....	80
4.5.1. Diagrama del procés.....	80
4.5.2. Inicialització i posicionament de la mostra.....	81
4.5.3. Algorisme d'enfocament i presa de les fotografies.....	83
4.5.4. Escombrat de la mostra.....	87
4.5.5. Mètode d'enfocament.....	89
4.5.6. Fase final.....	95
5. RESULTATS.....	96
5.1. Introducció.....	96
5.2. Prototip físic.....	96
5.3. Cost nou prototip de microscopi.....	99
5.4. Millores obtingudes.....	100
5.4.1. Millora del temps d'enfocament.....	100
5.4.2. Millora del mètode d'enfocament de la mostra.....	102
5.4.3. Altres millores.....	102
5.5. Implicacions Ambientals del projecte.....	103
5.5.1. Muntatge.....	103
5.5.2. Ús del microscopi.....	103
5.5.3. Fi de la vida útil dels materials.....	104
5.6. Futures millores pel microscopi AIScope.....	105
6. CONCLUSIONS.....	108
7. BIBLIOGRAFIA.....	109

Índex de figures

Figura 1.1. Imatge del microscopi FoldScope ("Foldscope India - A DBT-Prakash Labs initiative", IndiaBiosciencee).....	13
Figura 1.2. 6è model microscopi AIScope ("Microscopi AIScope", AIScope.net).....	14
Figura 2.1. Parts d'un microscopi òptic ("Partes de un microscopio óptico", Lifeder). .	17
Figura 2.2. Sistema òptic bàsic d'un microscopi ("El Microscopio", FISICALAB).....	18
Figura 2.3. Última iteració del microscopi AIScope. (A. Arrabal, 2019).....	19
Figura 2.4. Model Raspberry Pi 3B+. ("Raspberry Pi 3 B+", Ghalfacree).....	20
Figura 2.5. Detall de la mostra amb els eixos X, Y i Z del sistema mòbil.....	21
Figura 2.6. Materials del prototip actual del microscopi 1/2 (Adrià Arrabal, 2019).....	21
Figura 2.7. Materials del prototip actual del microscopi 2/2 (Adrià Arrabal, 2019).....	22
Figura 2.8. Cronologia dels prototips del microscopi AIScope.....	22
Figura 2.9. Diagrama de flux del programa actual (A. Fernández, 2019).....	23
Figura 2.10. Gràfic de l'evolució del valor d'enfocament respecte la distància amb l'objectiu.....	24
Figura 2.11. Objectiu en contacte amb la mostra per poder enfocar-la.....	26
Figura 2.12. Retracció de l'objectiu en la direcció de l'eix Z.....	26
Figura 2.13. Gràfic detallat de l'evolució del valor d'enfocament respecte la distància al objectiu.....	28
Figura 2.14. Importància de la subfase 2.3. respecte del temps total del procés.....	31
Figura 3.1. Esquema de la profunditat de camp d'un objectiu de microscopi ("Microscope Calculations", DOVER MOTION).....	36
Figura 3.2. Funció d'enfocament ideal.....	37
Figura 3.3. Sensor digital d'imatge. ("El sensor digital", Vive la Naturaleza).....	38
Figura 3.4. Representació gràfica de les capes d'una fotografia. ("How to Convert an RGB imatge to Grayscale", Brandon Rohrer).....	38
Figura 3.5. Exemple de fotografia poc contrastada i el seu histograma a la dreta.....	39
Figura 3.6. D'esquerra a dreta: imatge n°1, 50, 100, 174(enfocada) i 200 del banc de fotografies.....	40

Figura 3.7. Imatge enfocada (a baix) i imatge desenfocada (a dalt) del mateix punt de la mostra, amb els seus respectius histogrames.....	41
Figura 3.8. Funció d'enfocament de l'algoritme "Normalised Variance".....	42
Figura 3.9. Imatge desenfocada (esquerra) i imatge després de passar-li l'algoritme derivatiu (dreta).....	43
Figura 3.10. Imatge enfocada (esquerra) i imatge després de passar-li l'algoritme derivatiu (dreta).....	43
Figura 3.11. Esquema explicatiu d'una convolució.....	44
Figura 3.12. Fotografia original (esquerra), resultat de la convolució amb S_x (centre) i amb S_y (dreta).....	45
Figura 3.13. Funció d'enfocament de l'algoritme "Sobel Derivatives".....	46
Figura 3.14. Funció d'enfocament de l'algoritme "Tenenbaum Gradient".....	46
Figura 3.15. Càlcul de l'algoritme de forma gràfica en un histograma.....	47
Figura 3.16. Funció d'enfocament de l'algoritme "Range".....	48
Figura 3.17. Comparació de diferents algoritmes a baixa resolució.....	49
Figura 3.18. Fotografia original (esquerra) i fotografia amb soroll afegit (dreta).....	49
Figura 3.19. Comparació de diferents algoritmes amb soroll afegit a les imatges.....	50
Figura 3.20. Figura 3.x. Temps d'execució dels algoritmes respecte la resolució de la imatge.....	50
Figura 3.21. Sensor digital d'ultrasons per mesurar distàncies.("Medir distancia con Arduino y sensor de ultrasonidos HC-SR04", ArduProject).....	52
Figura 3.22. Sensor electromecànic de final de carrera ("Final de Carrera con Rueda", Iberrobotics).....	58
Figura 3.23. Sensor fotoelèctric de barrera ("Fotointerruptor", BricoGeek).....	59
Figura 4.1. Raspberry Pi Camera Module V2 ("Camera Module V2", Raspberry Pi Foundation).....	60
Figura 4.2. Esquema funcionament sensor final de carrera.....	61
Figura 4.3. Distribució de pins a la placa Raspberry Pi ("Using a push button with Raspberry Pi GPIO", Raspberry Pi HQ).....	61
Figura 4.4. Esquema connexió sensor final de carrera.....	62
Figura 4.5. Portaobjectes i cobreobjectes ("Portaobjetos para microscopio", Mundo Microscopio).....	63

Figura 4.6. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix X (1/2).....	64
Figura 4.7. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix X (2/2).....	64
Figura 4.8. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix Y (1/2).....	65
Figura 4.9. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix Y (2/2).....	65
Figura 4.10. Modelat 3D del microscopi, sensor posició eix Z.....	66
Figura 4.11. Funcionament sensor fotoelèctric de barrera ("¿Qué es un sensor fotoeléctrico?", Keyence).....	67
Figura 4.12. Sensor fotoelèctric utilitzat en el microscopi.....	67
Figura 4.13. Esquema connexió sensor fotoelèctric.....	68
Figura 4.14. Detall de la distància entre la base del carro i el portaobjectes.....	69
Figura 4.15. Sistema per detectar la posició Z del carro.....	70
Figura 4.16. Ubicació del sensor fotoelèctric al microscopi (1/2).....	71
Figura 4.17. Detall del sensor fotoelèctric muntat al microscopi.....	71
Figura 4.18. Ubicació del sensor fotoelèctric al microscopi (2/2).....	72
Figura 4.19. Detall de la unió de la guia amb el suport.....	72
Figura 4.20. Peces modificades [1], [2] i [3].....	73
Figura 4.21. Peces modificades [4] i [5].....	73
Figura 4.22. Peça modificada [6].....	74
Figura 4.23. Peces noves [7], [8] i [9].....	74
Figura 4.24. Vista general 1 microscopi AIScope.....	75
Figura 4.25. Vista general 2 microscopi AIScope.....	76
Figura 4.26. Vista general 3 microscopi AIScope.....	76
Figura 4.27. Vista carro mòbil microscopi AIScope.....	77
Figura 4.28. Vista detall sensors 1 microscopi AIScope.....	77
Figura 4.29. Vista detall sensors 2 microscopi AIScope.....	78
Figura 4.30. Vista detall sensors 3 microscopi AIScope.....	78
Figura 4.31. Vista detall sensors 4 microscopi AIScope.....	79
Figura 4.32. Nou plànol del tall làser incloent les noves peces pel microscopi.....	79
Figura 4.33. Diagrama de flux del procés automàtic del microscopi.....	80
Figura 4.34. Posició del punt de partida del microscopi.....	82

Figura 4.35. Posició d'inici del procés d'enfocament.....	83
Figura 4.36. Proposta de retall de la fotografia obtinguda amb el microscopi.....	84
Figura 4.37. Valors dels límits per fer el retall.....	86
Figura 4.38. Successió dels passos per retallar la fotografia.....	86
Figura 4.39. Exemple del recorregut plantejat per fer l'escombrat de la mostra.....	87
Figura 4.40. Posició d'inici del procés d'enfocament.....	89
Figura 4.41. Funció d'enfocament amb les fases indicades.....	91
Figura 4.42. Diagrama de flux del procés d'enfocament.....	93
Figura 5.1. Fotografia 1 del nou prototip del microscopi AIScope.....	96
Figura 5.2. Fotografia 2 del nou prototip del microscopi AIScope.....	97
Figura 5.3. Fotografia 3 del nou prototip del microscopi AIScope.....	97
Figura 5.4. Fotografia de detall del sensor fotoelèctric.....	98
Figura 5.5. Fotografia de detall del sensor fotoelèctric.....	98
Figura 5.6. Diagrama de Gantt proposat per les futures millores del microscopi AIScope.....	107

Índex de taules

Taula 1.1. Diagrama de Gantt 1/2.....	15
Taula 1.2. Diagrama de Gantt 2/2.....	16
Taula 2.1. Pros i contres de cada mètode d'enfocament del actual microscopi.....	25
Taula 2.2. Duració mitjana de les fases del programa actual.....	30
Taula 2.3. Temps de la subfase "2.3. Procés d'enfocament" respecte el número d'iteracions.....	31
Taula 2.4. Duració de les subfases de la fase "2.3. Procés d'enfocament".....	32
Taula 3.1. Comparació de les diferents alternatives pels sensors 1/2.....	55
Taula 3.2. Comparació de les diferents alternatives pels sensors 2/2.....	56
Taula 5.1. Resum del cost total del nou prototip del microscopi AIScope.....	99
Taula 5.2. Comparativa de la duració mitjana d'una iteració.....	100
Taula 5.3. Comparativa de la duració del procés d'enfocament.....	101
Taula 5.4. Comparativa de la duració del procés d'obtenció de fotografies.....	101

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Objecte del treball

L'objectiu principal del projecte consisteix en la millora del sistema d'enfocament d'un microscopi de baix cost per reduir el temps d'obtenció automàtica de fotografies de la mostra. Aquest microscopi està dirigit a usuaris sense coneixements biomèdics, per a comunitats aïllades on no es pot fer un fàcil diagnòstic de malalties infeccioses com la malària o la tuberculosi.

1.2. Abast el treball

Per dur a terme aquest projecte, es treballaran i desenvoluparan els següents punts:

- Introducció i planificació: Es planificaran i programaran les tasques per tal d'organitzar el desenvolupament del projecte, així com la redacció del Project Charter.
- Anàlisi de l'estat actual: Anàlisi de l'estat actual del microscopi pel que fa a software. Es farà una cerca de les operacions crítiques, és a dir, les parts del programa que més fan augmentar el temps total del diagnòstic. A partir de l'anterior anàlisi, es determinaran els punts d'actuació per millorar el programa.
- Cerca d'informació útil: Recerca d'informació sobre algoritmes i sensors per tal d'obtenir diferents alternatives, les quals ajudin a disminuir el temps de diagnòstic amb el microscopi.
- Proposta d'alternatives: Proposició d'alternatives de sensors, algoritmes i millores del programa. Se seleccionaran les millors alternatives segons els criteris escollits.
- Implementació millores: Desenvolupament de les alternatives i millores seleccionades al microscopi, fabricació del prototip en format físic.
- Comprovació dels resultats: Comparació dels resultats obtinguts respecte als models anteriors del microscopi. Anàlisi dels resultats obtinguts respecte als objectius i requeriments proposats inicialment. Conclusions finals.
- Aspectes ambientals: Determinació de les implicacions ambientals del projecte.
- Documentació: Elaboració de tota la documentació necessària del projecte, incloent-hi la memòria, plànols, pressupost, seguiments i l'autoinforme de qualitat.

Dins del projecte no es treballarà:

- Software utilitzat amb el mòbil. Es treballarà sobre una càmera externa al mòbil i aquest no s'utilitzarà durant el desenvolupament.
- Redisseny mecànic del prototip, exceptuant la integració de sensors.

1.3. Requeriments del treball

Els principals requeriments d'aquest projecte són els que mostren a continuació:

- Fotografiar la mostra sencera del microscopi sense cap intervenció.
- Reduir al màxim la duració del procés automàtic d'obtenció de fotografies, més específicament el temps d'enfocament i presa d'imatges de la mostra.
- Utilitzar components estàndard per tal que es puguin recanviar fàcilment.
- Mantenir el cost total del microscopi per sota de 100 €.
- El projecte ha de seguir les directrius de l'equip AIScope.
- La dedicació del projecte ha de ser vora les 300 h.
- Data d'entrega del projecte el 30 de juny de 2020.

1.4. Utilitat del treball

Segons l'OMS, s'estima que l'any 2017 van morir 435.000 persones per culpa de la malària (el 93% a la regió de l'Àfrica). En aquell mateix any, l'OMS va estimar que hi va haver 219.000.000 casos de malària al món (el 92% a la regió de l'Àfrica)(1).

Aquesta malaltia té un efecte devastador per als països pobres, on l'accés a la sanitat és limitat i la pobresa està molt estesa. En aquestes regions la variant del paràsit que provoca la malària és més resistent i més perillós(2). A causa del greu problema que presenta la malària per als països amb pocs recursos, l'OMS es marca per a l'any 2030 reduir la mortalitat per aquesta malaltia en un 90% a tot el món.

La malària és curable si es diagnostica amb antelació, per tant és important per a aquestes poblacions disposar dels medis per poder fer-ho. Segons l'OMS, abans de fer un tractament, s'ha de confirmar si la persona té la malaltia amb un diagnòstic amb mètodes parasitològics (proves microscòpiques o de diagnòstic ràpid), amb la capacitat d'obtenir els resultats en 30 minuts o menys.

D'aquest problema va sorgir el projecte sense ànim de lucre AIScope(3), impulsat per Eduardo Peire i Laura Moro, que l'any 2017 van decidir anar més enllà del projecte existent FoldScope:



Figura 1.1. Imatge del microscopi FoldScope ("Foldscope India - A DBT-Prakash Labs initiative", IndiaBiosciencee)

La idea del microscopi de baix cost AIScope, és la d'aprofitar els avantatges de la intel·ligència artificial per a fer una diagnosi automàtic a partir d'un banc de fotografies de la mostra que es vol analitzar.

Es pretén enviar aquest microscopi a països amb pocs recursos afectats per malalties infeccioses com la malària.



Figura 1.2. 6è model microscopi AIScope ("Microscopi AIScope", AIScope.net)

Aquest projecte parteix dels dissenys anteriors del microscopi AIScope. El 2018, Joana Aina Martorell i Ariadna Fernández van dissenyar el 7è model del microscopi en els seus treballs de fi d'estudis "Estudio y diseño de un microscopio low-cost para la detección a bajo coste de infecciones en las muestras de sangre" (4) i "Project of low-cost microscope automation for data gathering" (5) respectivament. La següent iteració del microscopi AIScope va ser realitzada per Adrià Arrabal en el seu treball de final d'estudis "Proyecto de mejora de un microscopio de bajo coste" (6).

En aquest projecte, la novena iteració, es vol millorar el sistema d'enfocament i la velocitat de diagnòstic, ja que actualment no és totalment automàtic i el temps de presa de fotografies és massa llarg. També es vol mantenir el baix cost de fabricació del microscopi perquè sigui viable l'enviament d'aquest a les regions més afectades per la malària i d'altres malalties infeccioses.

1.5. Planificació del projecte

TASQUES	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
	17 Febr 23 Febr	24 Feb 1 Març	2 Març 8 Març	9 Març 15 Març	16 Març 22 Març	23 Març 29 Març	30 Març 5 Abr	6 Abr 12 Abr	13 Abr 19 Abr	20 Abr 26 Abr
1.1.1. Anàlisis del programa actual.										
1.1.2. Cerca d'operacions crítiques.										
1.1.3. Plantejament de millores.										
1.2.1. Cerca d'informació pel programa.										
1.2.2. Cerca d'informació de sensors.										
1.2.3. Determinació d'alternatives pel programa.										
1.2.4. Determinació d'alternatives de sensors.										
1.2.5. Selecció d'alternatives pel programa.										
1.2.6. Selecció d'alternatives de sensors.										
1.3.1. Implementació solució pels sensors.										
1.3.2. Implementació millores pel programa.										
1.4.1. Comparació amb el model previ d'AlScope										
1.4.2. Comprovació dels requeriments inicials.										
1.4.3. Conclusions finals del projecte.										
1.5.1. Aspectes ambientals del projecte.										
1.6.1. Project Charter.										
1.6.2. Documentació Projecte.										
1.6.3. Seguiments del projecte.										

Taula 1.1. Diagrama de Gantt 1/2



TASQUES	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
	27 Abr 7 Maig	4 Maig 10 Maig	11 Maig 17 Maig	18 Maig 24 Maig	25 Maig 31 Maig	1 Juny 7 Juny	8 Juny 14 Juny	15 Juny 21 Juny	22 Juny 28 Juny	29 Juny 30 Juny
1.1.1. Anàlisi del programa actual.										
1.1.2. Cerca d'operacions crítiques.										
1.1.3. Plantejament de millores.										
1.2.1. Cerca d'informació pel programa.										
1.2.2. Cerca d'informació de sensors.										
1.2.3. Determinació d'alternatives pel programa.										
1.2.4. Determinació d'alternatives de sensors.										
1.2.5. Selecció d'alternatives pel programa.										
1.2.6. Selecció d'alternatives de sensors.										
1.3.1. Implementació solució pels sensors.										
1.3.2. Implementació millores pel programa.										
1.4.1. Comparació amb el model previ d'AlScope										
1.4.2. Comprovació dels requeriments inicials.										
1.4.3. Conclusions finals del projecte.										
1.5.1. Aspectes ambientals del projecte.										
1.6.1. Project Charter.										
1.6.2. Documentació Projecte.										
1.6.3. Seguiments del projecte.										

Taula 1.2. Diagrama de Gantt 2/2

2. ANÀLISI DEL PROTOTIP ACTUAL

2.1. Introducció

En aquest apartat es farà una anàlisi de l'actual prototip del microscopi AIScope i s'estudiarà com funciona el software del procés automàtic d'obtenció d'imatges de la mostra. Es buscaran les operacions crítiques que allarguen tot el procés del diagnòstic i es marcarà una línia d'acció per a desenvolupar el nou prototip del microscopi millorat.

2.2. Funcionament d'un microscopi òptic

El microscopi òptic és un instrument utilitzat per a observar objectes massa petits per poder ser vistos amb l'ull nu. El sistema òptic d'un microscopi compost consisteix en dues lents convergents, anomenades objectiu i ocular(7). Aquest, es pot dividir en tres sistemes:

- **Sistema òptic:** Està compost pel conjunt de lents (ocular i objectiu) i la seva funció és ampliar la imatge de l'objecte. Tant l'ocular com l'objectiu estan formats per un conjunt de lents convergents.
- **Sistema d'il·luminació:** La seva funció és il·luminar l'objecte a analitzar amb el microscopi.
- **Sistema mecànic:** Està compost per totes les parts físiques del microscopi on es troben els sistemes òptics i d'il·luminació. També s'hi troben tots els elements que permeten subjectar i enfocar l'objecte que es vol observar.



Figura 2.1. Parts d'un microscopi òptic ("Partes de un microscopio óptico", Lifeder)

La mostra a analitzar se situa en una placa de vidre anomenada portaobjectes per a poder ser observada correctament.

En un microscopi òptic, l'objectiu és la lent més pròxima a l'objecte i l'ocular és la lent més pròxima a l'ull. L'objectiu fa un augment de l'objecte i l'inverteix, generant el que es diu en un sistema òptic una imatge real. Aquesta imatge real es forma a l'aire i podria projectar-se en una pantalla.

L'ocular actua com una lupa que augmenta la imatge generada per l'objectiu i forma una imatge virtual. La imatge virtual pot ser visualitzada amb el sentit de la vista, obtenint així una imatge final més gran que l'objecte original(7). En la Figura 2.2. es mostra un esquema de com funciona un microscopi òptic:

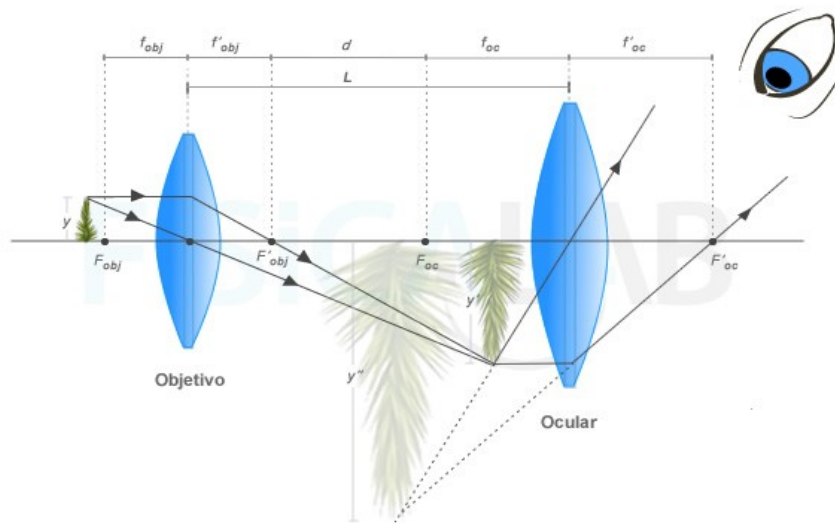


Figura 2.2. Sistema òptic bàsic d'un microscopi ("El Microscopio", FISICALAB)

Una característica important de l'objectiu i l'ocular és el seu augment, el qual està gravat en el cos de l'objecte. Els valors d'augment del microscopi s'indiquen com un número seguit de la lletra 'x', sent valors típics d'augment 40x, 60x, 100x pels objectius i 6x, 10x, 20x pels oculars. Per conèixer l'augment total que fa el microscopi de l'objecte, només cal multiplicar l'augment de l'objectiu i l'ocular.

2.3. Microscopi AIScope: Parts i materials utilitzats

El microscopi AIScope és un microscopi òptic, format per un objectiu (60x) i un ocular (16x) que aconseguixen un augment total de 960x. A diferència del microscopi òptic que s'ha explicat en l'anterior apartat, la imatge ampliada de la mostra no s'observa amb l'ull sinó amb una càmera digital. La mostra es fotografia amb una càmera de mòbil, el qual es col·loca a sobre un suport de tal manera que la càmera d'aquest estigui a l'altura de l'ocular.

El microscopi AIScope està format per tres grups d'elements principals:

- Base: Estructura on se subjecta el cos del microscopi i el mòbil.
- Cos: Element que subjecta el sistema òptic i uneix la base amb el sistema de moviment.
- Sistema mòbil: Sistema mecànic que mou la mostra per poder enfocar-la i fer-ne un mapatge. En aquest grup també s'hi inclou un led que il·lumina la mostra. Al sistema mòbil també se l'anomenarà "carro" durant el projecte.

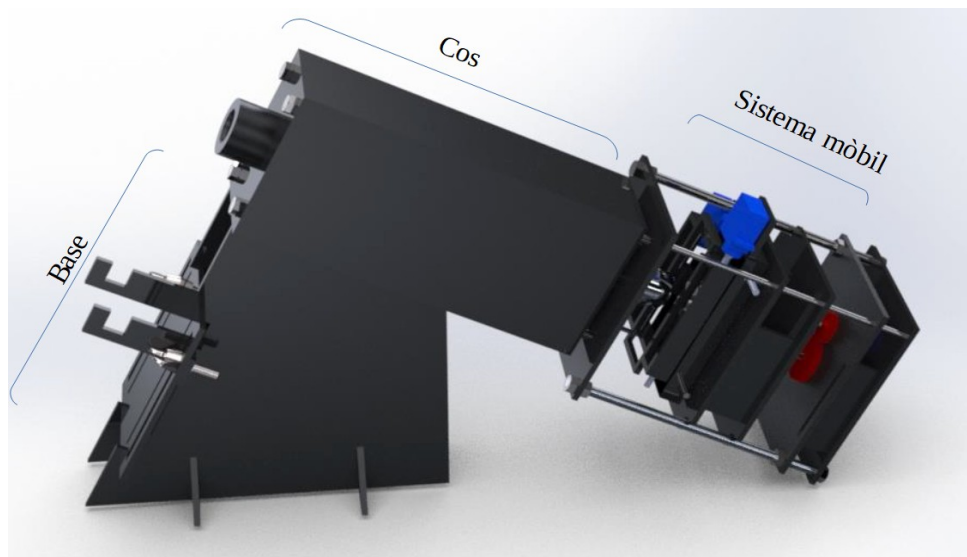


Figura 2.3. Última iteració del microscopi AIScope. (A. Arrabal, 2019)

Aquest microscopi és automàtic i mou la mostra en les tres direccions de l'espai amb l'ajuda de servomotors. L'automatització fa que la intervenció humana sigui mínima, per tant el microscopi ha de ser capaç de fotografiar tota la mostra i donar un diagnòstic sense l'ajuda d'un professional. D'aquesta manera, el procés d'analitzar una mostra de sang es fa més

accessible per a països pobres on molts individus no tenen accés a l'assistència mèdica d'una forma senzilla.

El integrants del projecte global d'AI Scope van desenvolupar un algoritme basat en Machine Learning que permet, a partir d'un banc de fotografies, determinar si una mostra de sang conté el paràsit de la malària(3). Aquest banc de fotografies el proporciona el microscopi automàtic, el qual enfoca i pren fotografies de tota la mostra. En un futur, es vol aconseguir que a partir d'un telèfon intel·ligent amb l'aplicació d'AI Scope es pugui realitzar tot aquest procés del diagnòstic.

En el prototip actual, els elements electrònics que formen el microscopi (servomotors i led) es controlen des d'una placa Raspberry Pi, un ordinador de dimensions reduïdes que pot gestionar entrades i sortides digitals i connexions sense fil (Wifi i Bluetooth). S'utilitza la Raspberry Pi perquè és versàtil per a fabricar prototips, tot i que en la versió final del microscopi es buscarà un controlador més específic.

En aquesta placa s'hi ha escrit un programa o software en Python (llenguatge de programació) per poder automatitzar tot el procés d'obtenció d'imatges amb el microscopi.



Figura 2.4. Model Raspberry Pi 3B+. ("Raspberry Pi 3 B+", Ghalfacree)

Per desplaçar-se en les tres direccions de l'espai, el grup mòbil del microscopi funciona amb el sistema cargol-femella. Els servomotors fan girar un eix roscat (cargol) a través d'una femella, la qual està fixada a la base mòbil del carro. En girar el cargol, com que la femella està fixada i no pot girar sobre si mateixa, aquesta es trasllada en la mateixa direcció de l'eix roscat amb el carro mòbil. D'aquesta manera es transforma un moviment giratori en un moviment lineal, el qual permet desplaçaments curts i precisos.

Per facilitar l'estudi del microscopi, s'han definit uns eixos per representar aquests moviments en l'espai. Tal com es mostra en la Figura 2.5, la mostra es pot moure en els eixos X, Y i Z a partir del sistema cargol-femella i el gir dels servomotors.

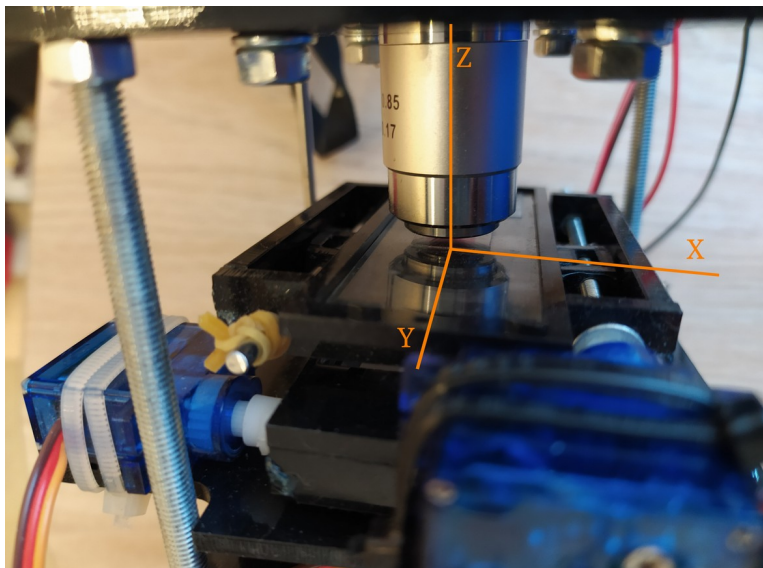


Figura 2.5. Detall de la mostra amb els eixos X, Y i Z del sistema mòbil.

El cost total del prototip actual és de 75,57 €. Els materials utilitzats per a fabricar-lo són els següents:

MATERIALES	CANTIDAD	COSTE/UNIDAD	COSTE
Plancha de metacrilato (420x500mm)	1	8,00 €	8,00 €
Varilla roscada DIN 975 M3 (1000mm)	1	0,34 €	0,34 €
Varilla roscada DIN 975 M5 (1000mm)	2	0,43 €	0,86 €
Varilla lisa A3 (2000mm)	2	0,90 €	1,80 €
Tuerca hexagonal ISO 4036 M3	4	0,03 €	0,12 €
Tuerca hexagonal ISO 4036 M5	2	0,04 €	0,08 €
Tuercas autoblocantes DIN 985 M3	3	0,06 €	0,18 €
Tuercas autoblocantes DIN 985 M5	24	0,07 €	1,68 €
Tuercas de mariposa soldadas DIN 315 M5	2	0,10 €	0,20 €
Arandela A3	2	0,01 €	0,01 €
Lente ocular AmScope EP16X23-S One WF 16X	1	13,39 €	13,39 €
Lente objetivo DIN 45 mm Acromático	1	19,20 €	19,20 €
Plancha de espuma Stratocell (100x100mm)	1	1,34 €	1,34 €
Engranaje recto módulo 0,5 D32Z	1	1,17 €	1,17 €
Engranaje recto módulo 0,5 D46Z	1	1,17 €	1,17 €
TOTAL CONSTRUCCIÓN			49,54 €

Figura 2.6. Materials del prototip actual del microscopi 1/2 (Adrià Arrabal, 2019)

MATERIALES	CANTIDAD	COSTE/UNIDAD	COSTE
Raspberry Pi Zero W	1	10,00 €	10,00 €
Tarjeta micro SD 32GB	1	5,99 €	5,99 €
Servomotor de 360º	3	2,60 €	7,79 €
Conectores macho-macho	2	0,15 €	0,29 €
Conectores macho-hembra	10	0,15 €	1,46 €
Conectores hembra-hembra	3	0,15 €	0,44 €
LED	1	0,04 €	0,04 €
Resistencia de 100 Ω	1	0,02 €	0,02 €
TOTAL ELECTRÓNICA			26,03 €

Figura 2.7. Materials del prototip actual del microscopi 2/2 (Adrià Arrabal, 2019)

L'evolució dels últims prototips del microscopi AIScope fins a arribar a l'actual iteració és la següent:

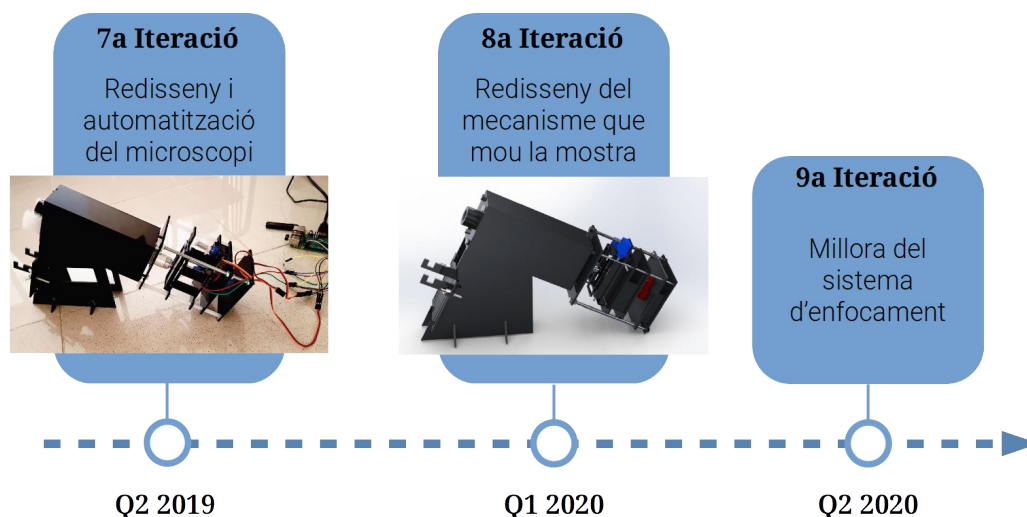


Figura 2.8. Cronologia dels prototips del microscopi AIScope.

- **7a Iteració:** Projecte desenvolupat per Joana Aina Martorell Sastre (redisseny) i Ariadna Fernández Martínez (automatització) en els seus respectius treballs de fi d'estudis.
- **8a Iteració:** Projecte realitzat per Adrià Arrabal López en el seu treball de fi d'estudis.
- **9a Iteració:** Projecte actual.

Així doncs, l'últim prototip del microscopi el va dissenyar Adrià Arrabal, el qual va millorar el sistema mecànic d'enfocament i centrat de la mostra. Tot i això, el software que controla tots els elements electrònics del microscopi segueix sent el que es va fer en la 7a Iteració. Per tant, a partir de l'última iteració del microscopi i el software de la 7a iteració es reprendrà aquest projecte per a realitzar una millora del sistema d'enfocament.

2.4. Anàlisi del software del prototip actual

2.4.1. Funcionament del programa actual

Durant tot aquest apartat es faran referències al programa actual del microscopi, dissenyat per l'Ariadna Fernández en el seu treball de fi d'estudis "Project of low-cost microscope automation for data gathering".

El diagrama de flux que representa el funcionament de l'actual programa és el següent(5):

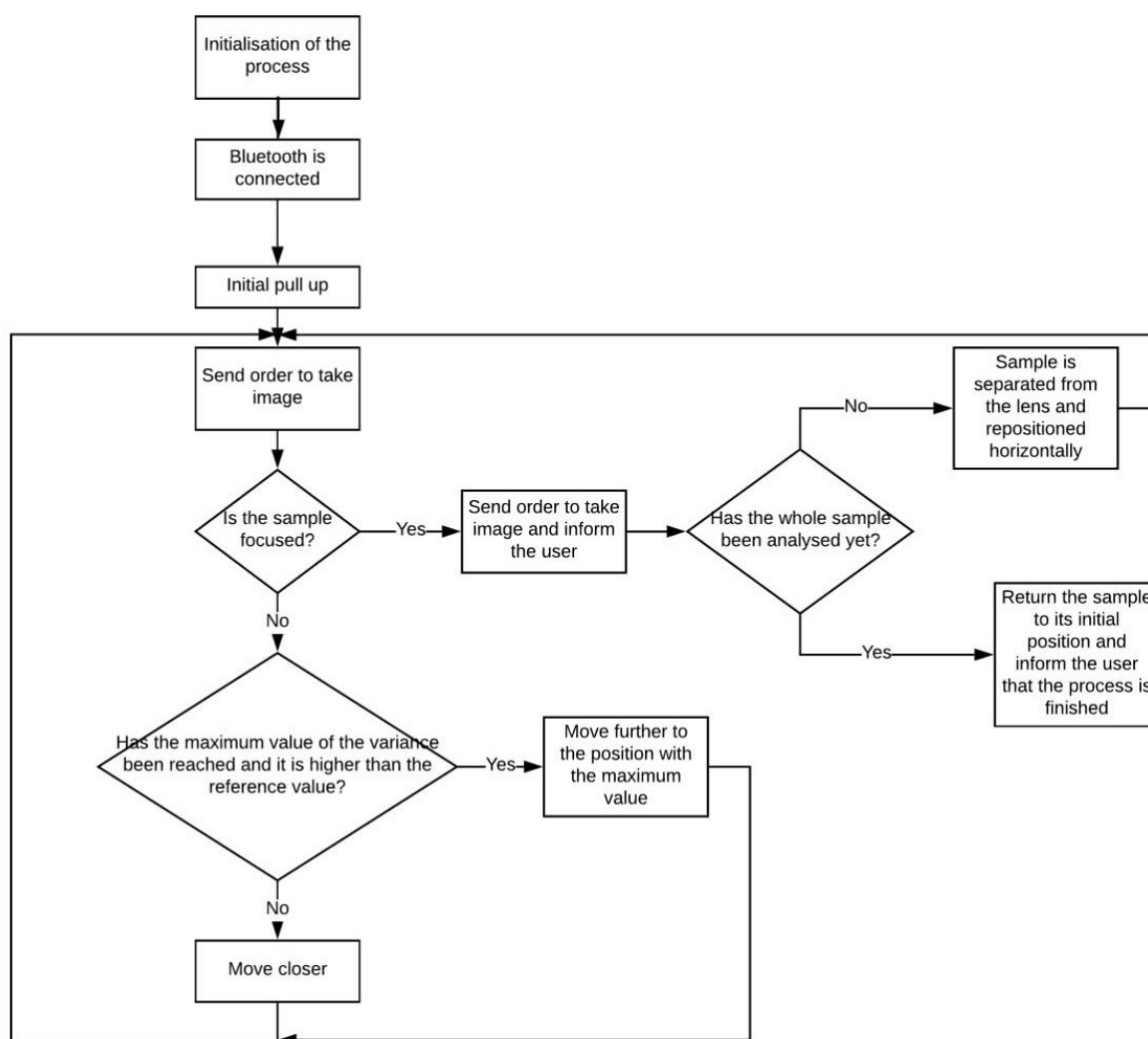


Figura 2.9. Diagrama de flux del programa actual (A. Fernández, 2019)

L'actual programa que controla el microscopi està basat en l'ús d'un telèfon intel·ligent per realitzar les fotografies i enviar-les cap a la placa Raspberry Pi per processar-les.

A partir d'observar com funciona el programa, s'ha descompost en les següents fases per a fer-ne una anàlisi més detallat:

1. Inicialització del programa i moviment de la mostra al punt d'inici.
2. Presa de fotografies de la mostra (en bucle):
 - 2.1. Moviment horitzontal eix Y o X (alternança).
 - 2.2. Apropament de la mostra a l'objectiu.
 - 2.3. Procés d'enfocament.
 - 2.4. Presa de la fotografia enfocada.
 - 2.5. Allunyament de la mostra de l'objectiu.
3. Finalització del procés i retorn del portaobjectes a la posició final.

En una primera aproximació, el mètode d'enfocament de la mostra consistia a obtenir una seqüència d'imatges, cada cop a una distància Z més a prop de l'objectiu. Cada imatge es processa amb un algoritme d'enfocament que retorna un valor d'enfocament. D'aquesta manera, s'obté una llista de valors d'enfocament de les imatges per cada distància Z entre la mostra i l'objectiu. A partir d'aquesta llista, es busca la distància entre l'objectiu i el portaobjectes que té el valor d'enfocament més alt, que correspon a la mostra enfocada:

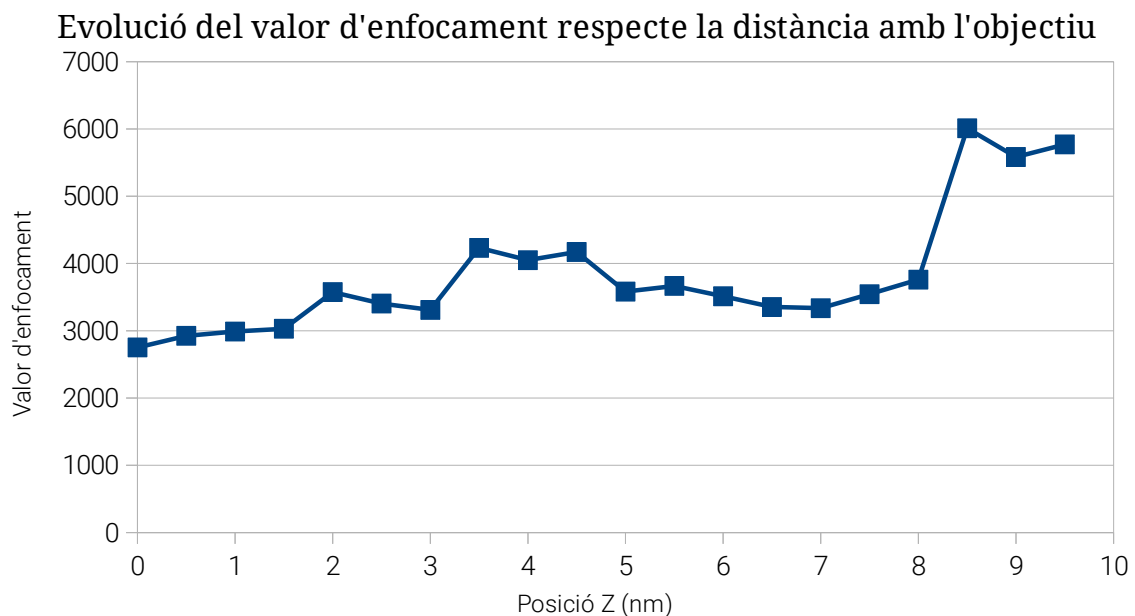


Figura 2.10. Gràfic de l'evolució del valor d'enfocament respecte la distància amb l'objectiu.

Per obtenir el valor d'enfocament, cada imatge es processa amb un algoritme i se n'obté un número que indica el grau d'enfocament de la fotografia. Amb el valor d'enfocament, el microscopi es mou fins a la posició amb el valor d'enfocament més alt (considerat el punt on la fotografia està més ben enfocada).

L'algoritme d'enfocament del microscopi actual s'anomena "Sobel Derivatives". El funcionament d'aquest tipus d'algoritme s'explica en detall en l'apartat en l'apartat 3.2.4. *Algoritmes Derivatiu*.

En la versió final del software del prototip, el procés d'enfocament inicial es va canviar per un procés iteratiu. El microscopi comença prenent una fotografia de la mostra i la processa amb l'algoritme d'enfocament. Si aquesta fotografia té un valor d'enfocament superior a l'anterior, s'apropa el portaobjectes amb la mostra a l'objectiu; si és inferior, s'allunya de l'objectiu. Quan s'obté una imatge amb un valor d'enfocament per sobre d'un valor mínim d'enfocament (arbitrari), es considera que la imatge està enfocada.

Els dos mètodes d'enfocament presentats anteriorment tenen una sèrie d'avantatges i inconvenients, els quals s'han detectat fent proves amb el microscopi:

PROGRAMA INICIAL (MAPATGE)	PROGRAMA FINAL (ITERATIU)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ El procés té sempre la mateixa duració. ✓ El punt d'enfocament és el més bo dels punts analitzats. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Precisió per trobar el punt d'enfocament.
<ul style="list-style-type: none"> ✗ Obtenció d'una fotografia de la mostra no necessàriament enfocada. ✗ Es pot ratllar la lent de l'objectiu o la mostra si entren en contacte excessivament. ✗ Difícil de calibrar el punt inicial del procés. ✗ Si es necessita més precisió, implica un augment del temps ja que es processen més fotografies. 	<ul style="list-style-type: none"> ✗ La duració del procés pot ser excessiva o fins i tot no arribar a finalitzar. ✗ El llindar del valor d'enfocament mínim pot no ser l'adient en totes les ocasions. ✗ És molt susceptible als màxims locals de la funció d'enfocament. ✗ Si la mostra entra en contacte amb l'objectiu, el programa és incapaç d'enfocar la mostra.

Taula 2.1. Pros i contres de cada mètode d'enfocament del actual microscopi.

El procés d'enfocament s'ha de realitzar per cada fotografia de la mostra perquè, tal com recull l'Ariadna Fernández en el seu treball, el disseny òptic del microscopi no permet enfocar la mostra sense estar gairebé en contacte amb el portaobjectes. En la Figura 2.11. es mostra una fotografia per mostrar la proximitat de l'objectiu amb el portaobjectes per poder enfocar la mostra:

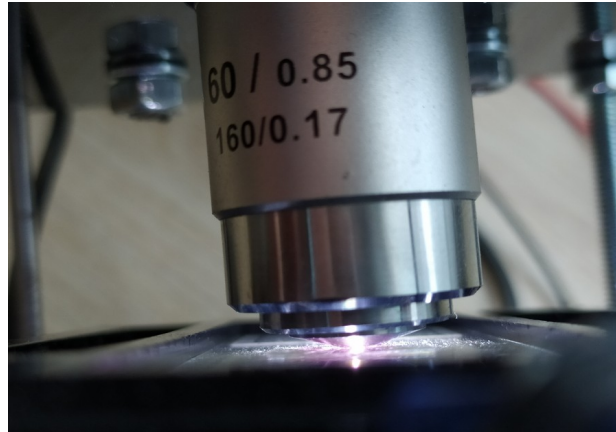


Figura 2.11. Objectiu en contacte amb la mostra per poder enfocar-la.

Això impedeix que es pugui fer un escombrat de tota la mostra mentre estigui enfocada, ja que a l'hora de moure el portaobjectes en la direcció horitzontal hi hauria fricció entre l'objectiu i la mostra, podent malmetre aquests dos components.

Per solucionar aquest problema, s'ha d'allunyar l'objectiu del portaobjectes cada vegada que es vol prendre una fotografia d'un altre punt de la mostra.

L'objectiu té una molla elàstica que permet un lleuger moviment del mateix objectiu en la direcció de l'eix, per tal de permetre el contacte amb el portaobjectes sense arribar a trencar-lo com es mostra en la Figura 2.12:

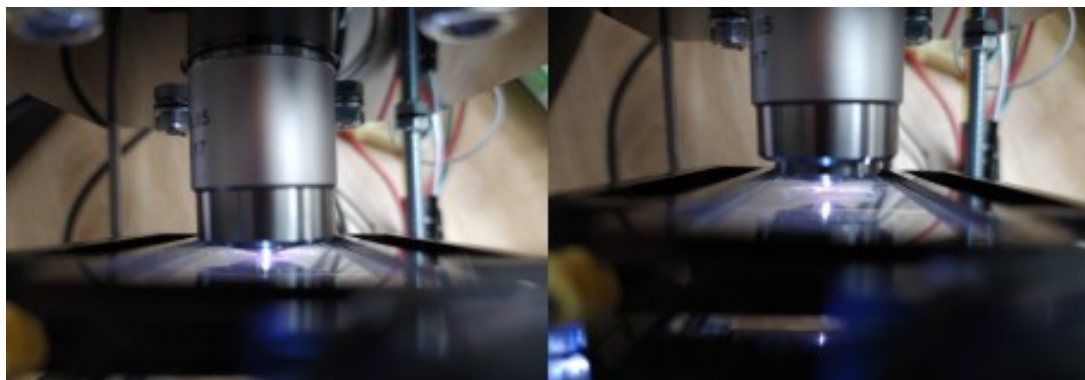


Figura 2.12. Retracció de l'objectiu en la direcció de l'eix Z.

2.4.2. Problemes presentats del prototip actual

A continuació es descriuen certs problemes que presenta l'actual microscopi que no permeten fer un bon enfocament i/o que allarguen en excés aquest procés.

Problema 1: En el procés automàtic d'obtenció d'imatges, els moviments del microscopi no tenen cap punt inicial de referència. Per tant, quan el carro amb el portaobjectes es mou en qualsevol direcció, no es pot conèixer exactament la seva nova posició.

Per conèixer la posició en cada moment, el programa actual té en compte la relació de la velocitat a la qual es mou el servomotor i els segons que el portaobjectes s'ha mogut. D'aquesta manera, el programa sap la distància que s'ha traslladat el carro des d'un punt inicial. Aquest mètode és poc precís, ja que si no es coneix la posició inicial del carro amb el portaobjectes, els moviments es fan a cegues.

A més, si el procés d'obtenció d'imatges no finalitza correctament o falla, la posició inicial del carro queda descalibrada permanentment. Tampoc es pot saber en cap moment si el carro està encallat en algun punt del seu recorregut.

Quan comença el procés automàtic d'obtenció d'imatges, el carro amb el portaobjectes es trasllada fins a la posició des d'on es comença a enfocar la mostra. El fet de no conèixer exactament la localització inicial del microscopi pot provocar que:

- Es descarrili el carro amb el portaobjectes de les varetes roscades per on es trasllada.
- Es trenqui alguna peça del carro en ser forçada pels servomotors.
- Es trenqui o es ratlli el portaobjectes amb la mostra.
- Es malmeti l'objectiu per la pressió exercida pel portaobjectes.

En qualsevol cas, no conèixer la posició inicial del carro pot provocar que el procés d'obtenció d'imatges no es realitzi correctament o que es malmeti algun component del microscopi.

A conseqüència d'aquest fet, s'ha de fer un calibratge del punt inicial del microscopi regularment, tenint en compte que la velocitat dels motors no és sempre constant i pot variar lleugerament amb el temps o el desgast. Fer un calibratge adequat resulta una tasca difícil, ja que s'ha de tenir accés al software del microscopi per moure el carro amb els servomotors, la qual cosa no és adequada perquè el microscopi hauria de ser automàtic.

Problema 2: A vegades, el procés iteratiu per enfocar la mostra pot ser massa llarg o no acabar mai.

Si la mostra no s'ha apropat suficientment a l'objectiu, pot donar-se el cas que el programa s'encalli buscant un màxim local, pensant-se que és un màxim global de la funció d'enfocament (entenent com a màxim global el punt on la fotografia està més ben enfocada). Això és provocat perquè el programa és susceptible al fet que la funció d'enfocament no sigui creixent en tot el seu domini.

Aleshores, com que en encallar-se en un màxim local no s'arriba mai al valor mínim d'enfocament (valor marcat arbitràriament), el programa mou el carro amb el portaobjectes endavant i endarrere en l'eix Z sense aconseguir enfocar mai.

Aquesta situació s'il·lustra en el següent gràfic:

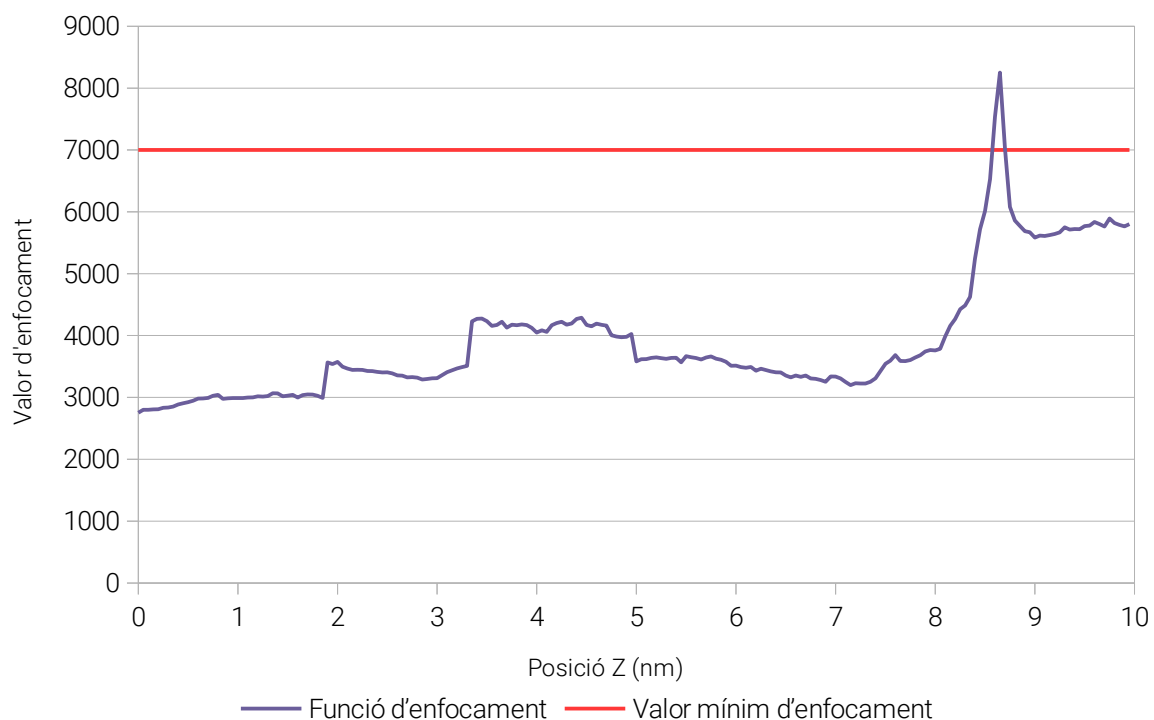


Figura 2.13. Gràfic detallat de l'evolució del valor d'enfocament respecte la distància al objectiu.

Entre les distàncies 3 i 5,5 nm hi ha un màxim local on el programa del microscopi es queda encallat intentant enfocar, però com que no s'arriba al valor mínim d'enfocament, el microscopi no aconsegueix arribar al punt d'enfocament real. El programa busca indefinidament el punt d'enfocament, però resulta en un procés iteratiu que no finalitza mai.

Problema 3: El programa no aconsegueix enfocar quan el portaobjectes es trasllada més enllà del punt d'enfocament, és a dir, quan la mostra i l'objectiu entren en contacte.

Aquesta zona és la que hi ha després del pic de la funció d'enfocament, en el gràfic de la figura x. El mètode d'enfocament actual, per la seva programació, és incapaç d'enfocar si entren en contacte l'objectiu i la mostra.

El programa actual no té gaire precisió per traslladar el carro en l'eix Z. És per això que el mètode d'enfocament va oscil·lant al voltant del punt d'enfocament en cada iteració, sense arribar a trobar el punt exacte on la mostra es troba ben enfocada. Eventualment, a conseqüència de la poca precisió, la mostra entra en contacte amb l'objectiu i succeeix el problema ja esmentat.

Problema 4: El programa actual fa 40 fotografies de tota la mostra, sense representar-la totalment.

Per fer un bon diagnòstic de la mostra, aquesta ha de quedar representada totalment. La funció del microscopi és realitzar el màxim de fotografies de la mostra perquè posteriorment es pugui fer un diagnòstic fiable de la mostra. Això no era fàcil amb la 7a iteració del microscopi, però el redisseny mecànic que va dur a terme l'Adrià Arrabal permet fer un escombrat de tota la mostra.

2.4.3. Operacions crítiques del programa actual

Per buscar les operacions o processos que tenen un major cost en temps, s'analitzarà la versió final del programa del microscopi escrit per l'Ariadna Fernández. Es buscaran els temps de cada tasca del procés, segons les fases que s'han indicat amb anterioritat.

Ha resultat impossible realitzar una prova real amb el programa actual del microscopi, ja que els valors d'enfocament no són els adients i el procés no aconsegueix enfocar la mostra. Tot i això, s'analitzaran les fases del procés per separat, sense tenir en compte les iteracions realitzades per aconseguir enfocar la mostra. S'han pres 40 fotografies de la mostra en aquesta prova.

Les fases del programa actual són les ja mencionades en l'apartat 2.4.1. *Funcionament del programa actual*. En la següent taula es mostren els temps de duració de cada fase, fotografiant 40 punts de la mostra i suposant que només es fa una iteració per enfocar la mostra:

Fases	Duració Mitjana (s)
1	17,16
2	186,34
2.1	0,05
2.2	1,00
2.3	1,57
2.4	0,64
2.5	2,00
3	16,00

Taula 2.2. Duració mitjana de les fases del programa actual.

S'observa que el temps de la fase "2. Presa de les fotografies" representa el 84,9 % del temps total del procés d'obtenció de fotografies de la mostra, mentre que les fases "1. Inicialització" i "3. Finalització del procés" només representen el 15,1 % del temps total. Com es veurà posteriorment si es consideren unes condicions més realistes, la duració d'aquestes fases influeix molt poc al temps total respecte a la fase 2.

Dins la fase 2, les subfases "2.1. Moviment horitzontal eix Y o X", "2.2. Apropament de la mostra a l'objectiu" i "2.5. Allunyament de la mostra de l'objectiu", depenen del moviment dels servomotors. Aquests temps es poden optimitzar i reduir al mínim possible per evitar desplaçaments innecessaris que facin augmentar el temps total del procés.

En la taula anterior s'ha considerat, tot i ser una hipòtesi errònia, que només es realitza una fotografia per saber si la mostra està enfocada o no. Tot i això, la realitat és que la duració de la fase 2 augmentarà en funció del nombre d'iteracions necessàries per enfocar la mostra i el nombre de fotografies totals a enfocar.

El nombre d'iteracions per enfocar la mostra varien per cada nova posició. S'agafarà un valor de mitjana de les iteracions, per així poder observar com afecten el temps total de computació del programa.

Es farà la mateixa prova que abans amb 40 fotografies de tota la mostra. Es considerarà diferents valors de mitjana d'iteracions per enfocar la mostra. El nombre d'iteracions afecta directament al temps de la subfase "2.3. Procés d'enfocament":

Nº d'iteracions	1	5	10	15	20
Duració mitjana subfase 2.3 (s)	1,57	6,46	11,35	16,4	21,28
Duració subfase 2.3 respecte la fase 2 (%)	29,9	63,6	75,4	81,6	85,2
Duració subfase 2.3 respecte el total (%)	25,3	58,6	71,3	78,3	82,4
Duració fase 2 respecte el total (%)	84,9	92,1	94,6	95,9	96,7
Duració total procés (min)	3,66	6,92	10,18	13,53	16,78

Taula 2.3. Temps de la subfase "2.3. Procés d'enfocament" respecte el número d'iteracions.

Com ja se suposava, el temps de la subfase 2.3 té més protagonisme dins la fase 2 a mesura que n'augmenten les iteracions. La subfase 2.3 no només allarga el temps total del procés, sinó que representa més del 70% del temps total a partir de només 10 iteracions.

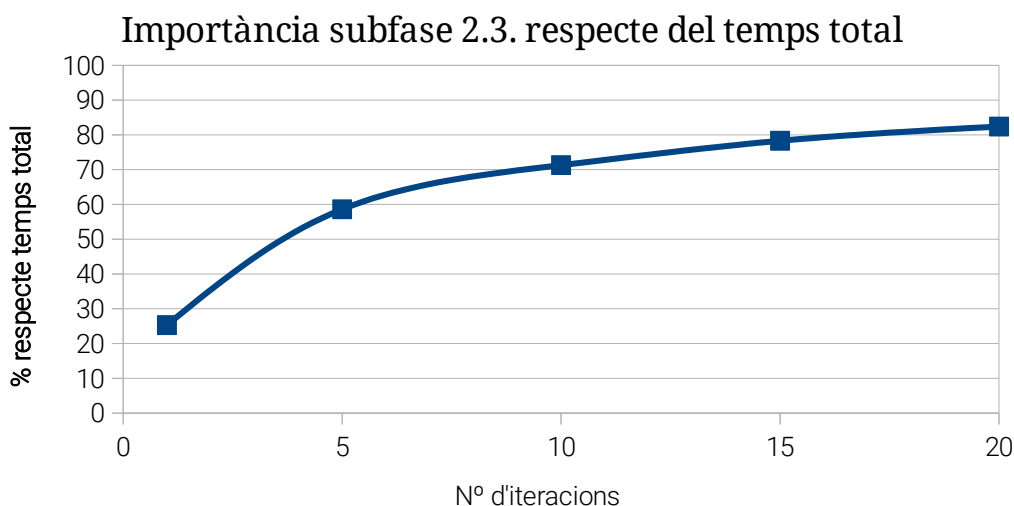


Figura 2.14. Importància de la subfase 2.3. respecte del temps total del procés.

En el cas d'augmentar el nombre de fotografies a realitzar de la mostra, el temps de la fase 2 representaria un percentatge encara més elevat del procés d'obtenció de fotografies. En conseqüència, la subfase 2.3. també representaria un major percentatge del temps total.

La mitjana d'iteracions d'aquest mètode d'enfocament no es pot conèixer fàcilment, ja que com s'ha comentat anteriorment ha resultat impossible utilitzar-lo per a enfocar la mostra. Tot i no tenir un programa que funcioni de forma sòlida, s'estima que amb el programa actual la mitjana d'iteracions per enfocar es troba al voltant de les 20. Si agafem com a referència 20 iteracions, la subfase 2.3. representaria el 82,4% del temps total del procés automàtic d'obtenció d'imatges.

Així doncs, és evident que el temps total del procés es reduirà si el procés d'enfocament s'optimitza. Per aprofundir més en la subfase 2.3., aquesta es descompondrà en les següents subfases:

2.3.1. Presa de fotografia i emmagatzemat a la memòria.

2.3.2. Importació de la fotografia al programa.

2.3.3. Càlculs de l'algoritme d'enfocament.

2.3.4. Moviment correctiu del servomotor en l'eix Z.

Per cada iteració durant l'enfocament, la duració mitjana de les anteriors subfases és la següent:

Subfase	2.3.1.	2.3.2.	2.3.3.	2.3.4.	Total
Duració Mitjana (s)	0,649	0,074	0,185	0,100	1,008

Taula 2.4. Duració de les subfases de la fase "2.3. Procés d'enfocament".

Es pot comprovar com el temps més significatiu d'aquest procés és el de prendre la fotografia (subfase 2.3.1.). Aquest temps és el més variable, ja que el software que controla la càmera ha de calcular prèviament els paràmetres amb els quals es farà la fotografia. No només això, sinó que també ha d'emmagatzemar cada fotografia a la memòria de la Raspberry Pi.

El temps de la fase "2.3.4. Moviment correctiu del servomotor en l'eix Z" es pot optimitzar per a tenir més precisió a l'hora d'enfocar.

2.4.4. Conclusions de l'anàlisi del prototip actual

De l'anàlisi de l'actual microscopi se n'han extret les següents conclusions:

- L'algoritme i/o el procés d'enfocament no permeten enfocar correctament la mostra, per tant s'ha de millorar de tal manera que funcioni de forma constant i fiable.
- La mostra no queda representada totalment degut al nombre de fotografies total que pot fer l'actual prototip.
- El microscopi no disposa de cap sistema per conèixer la posició del carro amb el portaobjectes.
- Pel que fa a la duració de tot el procés automàtic d'obtenció d'imatges, el temps més crític és la fase "2. Presa de fotografies de la mostra", principalment la subfase "2.3. Procés d'enfocament".
- Les iteracions que fa el programa per poder enfocar la mostra allarguen el temps de procés. Com més iteracions, més influeix la fase 2.3. al temps total del diagnòstic.
- Dins la fase 2.3., el temps més crític és el de prendre la fotografia.

Respecte als punts anteriors, es volen aconseguir els següents objectius a l'hora de dissenyar el nou prototip del microscopi AIScope:

- Utilitzar un mètode d'enfocament que, juntament amb l'algoritme d'enfocament, permeti enfocar la mostra de forma consistent i resolutiva.
- Utilitzar un mètode d'enfocament capaç de realitzar amb el mínim temps possible l'enfocament de la mostra.
- Reducció del nombre d'iteracions necessàries per a enfocar.
- Reducció del temps de les subfases dins la fase "2. Presa de fotografies de la mostra". Principalment es buscarà reduir el temps de la subfase "2.3. Procés d'enfocament".
- Buscar algun tipus de sensor que pugui posicionar el carro amb el portaobjectes i ajudar a reduir la duració del procés d'enfocament.
- Representar tota la mostra.

3. INVESTIGACIÓ I SELECCIÓ D'ALTERNATIVES

3.1. Introducció

En aquest apartat es valoraran les diferents alternatives per al software i hardware del nou prototip. Se seleccionaran les millors opcions tenint en compte els punts que s'han indicat en l'anterior apartat 2.4.4. *Conclusions de l'anàlisi del prototip actual*.

Respecte al software del microscopi, es compararan diferents opcions per l'algoritme d'enfocament, ja que és l'eina que permet saber si una fotografia està ben enfocada. Es pretén buscar un algoritme més adient o revalidar l'actual, amb l'objectiu de desenvolupar un mètode d'enfocament més ràpid i fiable.

Tant el mètode d'enfocament com la resta del programa del microscopi es desenvoluparà en l'apartat 4.5. *Procés automàtic d'obtenció de fotografies*, a partir de l'algoritme escollit.

Per millorar el procés automàtic d'obtenció d'imatges s'ha considerat l'ús de sensors, els quals han de permetre conèixer la posició del carro amb el portaobjectes i també aproximar amb precisió la mostra a l'objectiu. A més, els sensors poden ajudar a protegir els components del microscopi limitant el moviment del carro mòbil. Així doncs, es compararan diferents tipus de sensors i se seleccionarà la millor alternativa per al microscopi AIScope.

L'objectiu final és obtenir un banc de fotografies de tota la mostra de forma ràpida i fiable. Després de seleccionar les millors alternatives, es procedirà a implementar-les en la solució final del nou prototip de microscopi.

3.2. Algoritme d'enfocament

3.2.1. Sistemes per enfocar automàticament

Abans d'explicar les alternatives per l'algoritme d'enfocament, es vol respondre a la pregunta: perquè és necessari un algoritme d'enfocament pel microscopi AIScope?

Per enfocar automàticament una imatge es distingeixen dos tipus de mètodes d'enfocament: Mètodes actius i mètodes passius. En els dos casos es necessita una càmera, la qual té un sensor digital d'imatge, per fotografiar l'objecte.

Els mètodes actius es basen en l'ús de sensors externs que mesuren la distància a la qual es troba l'objecte a fotografiar(8). A partir de la distància, s'ajusten les lents òptiques de l'objectiu de la càmera o bé es modifica la distància entre l'objecte i el sensor d'imatge per a enfocar l'objecte.

En canvi, els mètodes passius enfoquen a partir de prendre fotografies i analitzar-les amb un algoritme (software). El dispositiu pren fotografies que s'analitzen amb l'algoritme d'enfocament, el qual determina si la imatge està enfocada o no. Si no està enfocada, s'han d'ajustar les lents o la distància entre el sensor i l'objecte. Aquest procés es va repetint de forma iterativa fins a enfocar l'objecte.

Com a excepció, hi ha mètodes passius com "Phase Detection" que sí que necessiten un o més sensors d'imatge per dur a terme la mateixa tasca. Aquests tipus de tecnologies és usada majoritàriament en càmeres digitals.

Així doncs, el concepte que diferencia els mètodes actius dels passius és que els primers "coneixen" on està el punt d'enfocament amb l'ajuda dels sensors externs, en canvi els segons "busquen" el punt d'enfocament sense conèixer exactament on està.

Els avantatges dels mètodes passius és que són més precisos i econòmics que els mètodes actius, però solen ser més lents i necessiten que l'objecte a enfocar estigui contrastat. El contrast no és un problema greu en un microscopi, ja que la mostra està il·luminada de forma controlada i existeixen diferents tipus d'il·luminació per microscopis automàtics.

També existeixen sistemes actius molt precisos, però el cost d'aquests sistemes és elevat.

Per enfocar una mostra biològica es necessita molta precisió per determinar el punt d'enfocament, ja que el sistema òptic d'un microscopi té una profunditat de camp molt petita, a vegades inferior a un 1 mm. La profunditat de camp o "Depth of Field" en un sistema òptic és

la zona on els objectes queden enfocats, mesurada en la direcció de l'eix òptic de l'objectiu(9). A la pàgina següent es mostra la Figura 3.1 amb un esquema de la profunditat de camp.

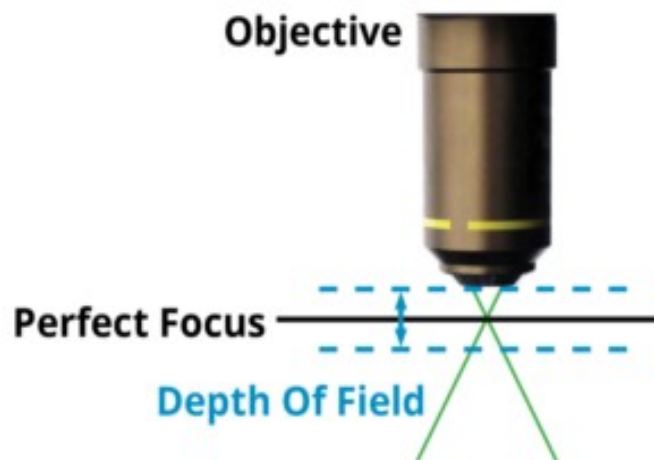


Figura 3.1. Esquema de la profunditat de camp d'un objectiu de microscopi ("Microscope Calculations", DOVER MOTION)

Per tots aquests motius exposats, s'utilitzarà un mètode passiu per enfocar les mostres del microscopi AIScope, ja que ha de ser de baix cost i es necessita que les imatges estiguin ben enfocades. Així doncs, es necessita un algoritme d'enfocament per poder determinar si la mostra està enfocada o no.

3.2.2. Generalitats dels algoritmes d'enfocament

Un algoritme d'enfocament proporciona un valor d'enfocament per una fotografia. La funció d'enfocament representa aquest valor d'enfocament de cada fotografia en funció de la distància Z entre la mostra i l'objectiu del microscopi, com es pot observar en la Figura 2.13.

El valor d'enfocament per si sol no determina si una fotografia està enfocada, sinó que s'ha de poder comparar amb la resta de valors de la funció d'enfocament per trobar-ne el màxim de la funció.

Alguns dels criteris per determinar que una funció d'enfocament és útil són els següents (traduït de l'anglès) (10)(11)(12):

- **Unimodalitat:** Només un màxim.

- **Precisió:** El màxim de la funció ha de ser a la posició on la fotografia està més enfocada.
- **Reproductibilitat:** El pic de la funció ha de ser agut, el qual permet una bona reproductibilitat de l'algoritme.
- **Rang:** Al voltant del màxim de la funció ha de ser el més pla possible, sense tenir màxims locals a prop.
- **Implementació:** L'algoritme ha de ser fàcil implementar.

Evolució del valor d'enfocament respecte la distància amb l'objectiu

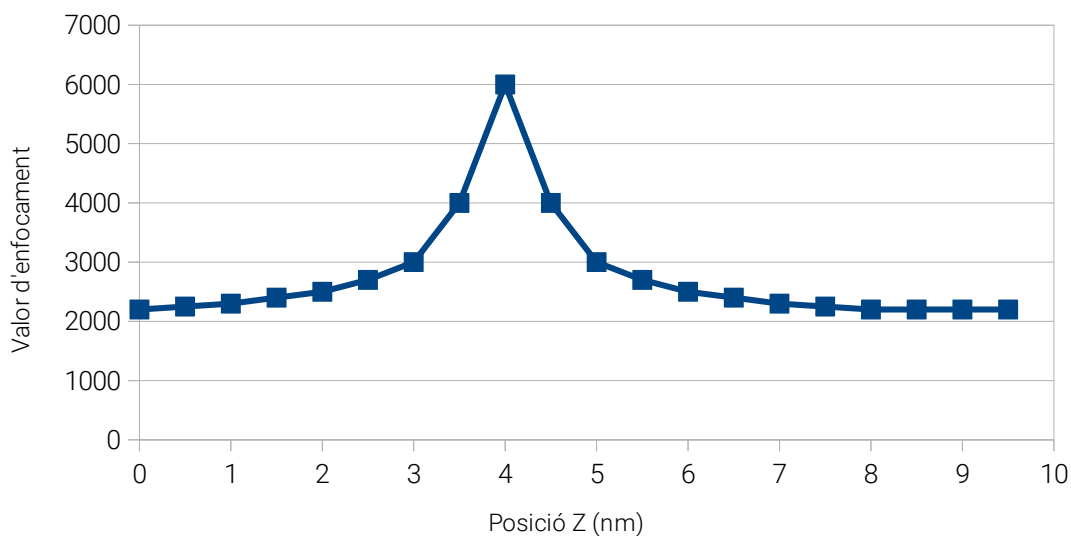


Figura 3.2. Funció d'enfocament ideal.

Com més ideal sigui la funció d'enfocament respecte als anteriors criteris (veure Figura 3.2), més ràpid i amb més precisió es pot enfocar la mostra. La forma de la funció d'enfocament dependrà de l'algoritme utilitzat, el tipus de mostra, la il·luminació i la qualitat de la imatge analitzada.

Existeix molta documentació sobre diferents algorismes, tècniques i tecnologies utilitzades per millorar l'enfocament de les mostres biològiques, ja que no hi ha un algoritme ideal per totes les situacions.

Cada algoritme valora el grau d'enfocament d'una fotografia segons uns principis diferents, però tots funcionen a partir d'analitzar la fotografia de la mostra. Per tant, es definiran a continuació certs conceptes teòrics sobre fotografia digital per entendre millor com funcionen els algoritmes d'enfocament, de tal manera que es puguin avaluar amb més coneixement.

Una fotografia digital és captada amb un sensor d'imatge. Aquests, estan formats per petites cèl·lules fotosensibles que capten la llum i la transformen en impulsos elèctrics(13).

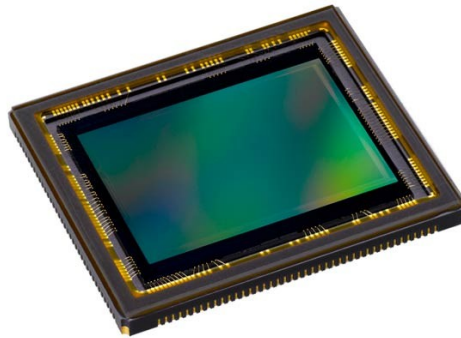


Figura 3.3. Sensor digital d'imatge. ("El sensor digital", Vive la Naturaleza)

La imatge formada a partir d'un sensor digital és un conjunt de píxels, on cada píxel és la unitat mínima representable. Cada píxel està format per tres valors numèrics que representen el seu color. La fotografia sencera es pot representar com una matriu de píxels (alçada per amplada de la fotografia) de tres dimensions, com es pot veure en la Figura 3.4. Cada dimensió de la matriu representa la lluminositat dels colors Vermell, Verd i Blau (sigles RGB en anglès) de cada píxel de la imatge. Aquesta quantitat és representada amb un valor enter del 0 al 255.

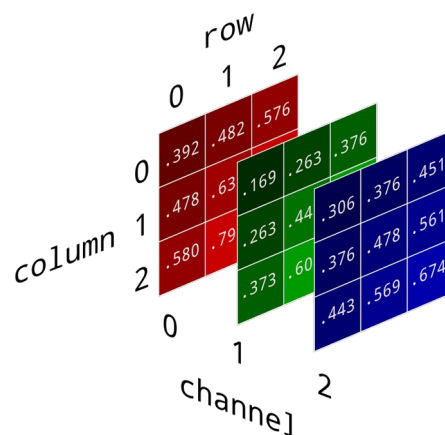


Figura 3.4. Representació gràfica de les capes d'una fotografia. ("How to Convert an RGB imatge to Grayscale", Brandon Rohrer)

Una imatge en blanc i negre es representa amb una sola matriu de dues dimensions. Cada valor de la matriu representa la lluminositat en escala de grisos de cada píxel, representat amb un nombre enter del 0 (Negre) al 255 (Blanc). Per reduir el temps de processament dels algoritmes d'enfocament, les imatges s'analitzen en blanc i negre.

Una manera d'extraure informació d'una fotografia és el seu histograma. Aquest representa gràficament les freqüències de lluminositat dels píxels que formen la imatge. Com més ampli i allunyat del centre és l'espectre de lluminositat en una fotografia, es diu que té més contrast(14).

Els valors a l'esquerra d'un histograma representen les freqüències dels valors de lluminositat baixa, i els valors a la dreta les freqüències dels valors amb més lluminositat. Els valors entremig representen les diferents tonalitats de grisos.

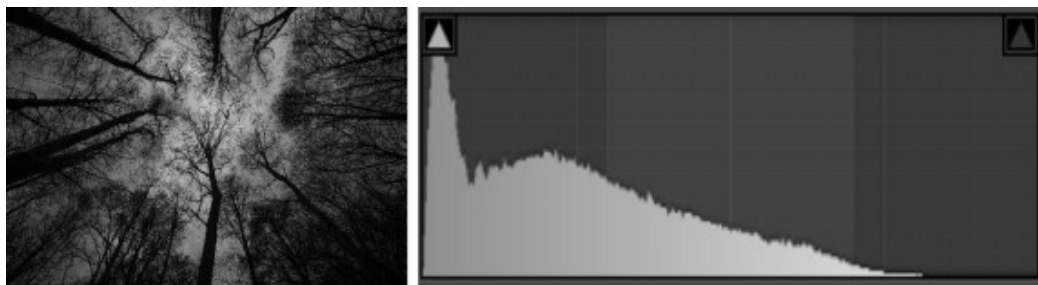


Figura 3.5. Exemple de fotografia poc contrastada i el seu histograma a la dreta.

Com que en l'histograma de la Figura 3.5 no hi ha pràcticament informació a la zona dreta, indica que hi ha poca quantitat de píxels amb alta lluminositat, per tant la fotografia està poc contrastada, ja que no té tot el rang de lluminositats.

Es distingeixen entre diferents tipus d'algoritmes d'enfocament segons els principis en els quals es basen (15),(12).

- **Algoritmes derivatius:** Es basen en el fet que una fotografia ben enfocada té les vores dels objectes més ben definides. Per determinar les vores dels objectes de la imatge, aquests algoritmes calculen el gradient del nivell d'intensitat lluminosa dels píxels de la imatge.
- **Algoritmes estadístics:** Distingeixen les fotografies entre enfocades o no a partir de calcular la variància o la correlació de la intensitat lluminosa dels píxels. En una

fotografia enfocada hi ha gran variació dels nivells d'intensitat dels píxels, és a dir, que està més contrastada. Per tant, el càlcul de la variància/correlació dona un valor corresponent al nivell de contrast de la imatge.

- **Algoritmes basats en l'histograma:** Aquest tipus d'algoritmes usen l'histograma de la fotografia, del qual n'analitzen la distribució i freqüència de les intensitats lluminoses dels píxels.
- **Algoritmes intuïtius:** Com bé diu el seu nom, no es basen en cap principi concret sinó en la intuïció i experiència observant imatges. No es tindran en compte com a alternatives pel microscopi AIScope per aquest motiu, ja que es necessita molta experiència i molta experimentació amb aquest tipus d'algoritmes.

Tal com analitzen Sun, Duthaler i Nelson (2004) (12), el millor resultat el va proporcionar l'algoritme "Normalised Variance Algorithm" (tipus estadístic). L'algoritme "Tenenbaum Gradient Algorithm" (tipus derivatiu) també va ser dels més satisfactoris a l'hora d'enfocar les imatges. Aquests dos algoritmes s'agafaran com a alternatives per al nou prototip.

Per tenir més alternatives per poder comparar, es provarà l'algoritme "Range algorithm" (basat en histograma) i l'algoritme utilitzat actualment pel microscopi "Sobel Derivatives", el qual és derivatiu i és molt semblant al "Tenenbaum Gradient Algorithm".

Per valorar els diferents algoritmes i poder comparar-los entre ells, es provaran amb diferents bancs de fotografies d'una mostra de sang d'ocell, fetes amb aquest mateix microscopi. S'han realitzat 200 fotografies per cada banc. A cada fotografia l'objectiu i la mostra estan més pròxims (varia la posició Z del carro mòbil), així es pot analitzar la funció d'enfocament generada pels algoritmes i el comportament en el punt d'enfocament real.

En la Figura 3.6 es mostra com es va enfocant la mostra a mesura que s'apropa a l'objectiu. Les fotografies són extretes d'un dels sis bancs de fotografies que s'utilitzarà en les proves:



Figura 3.6. D'esquerra a dreta: imatge n°1, 50, 100, 174(enfocada) i 200 del banc de fotografies.

3.2.3. Algoritmes Estadístics

L'algoritme estadístic que s'estudiarà com una de les alternatives és l'algoritme "Normalised Variance".

Aquest algoritme calcula la variància d'intensitats de tots píxels que formen la imatge. Es basa en el principi que una imatge enfocada té més contrast que una de desenfocada. La variància normalitzada és la variància dividida entre la mitjana d'intensitats de tots els píxels.

Per visualitzar millor aquest principi, es comparen dues fotografies amb els seus respectius histogrames:

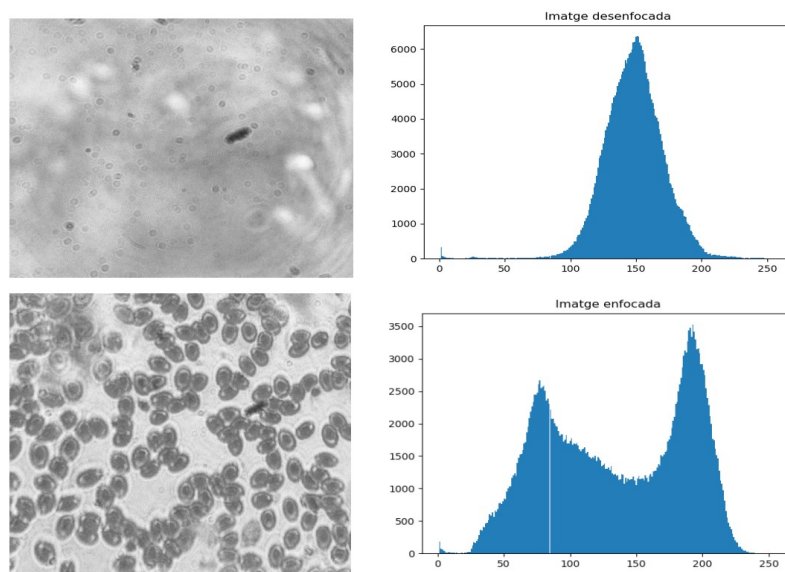


Figura 3.7. Imatge enfocada (a baix) i imatge desenfocada (a dalt) del mateix punt de la mostra, amb els seus respectius histogrames.

En la Figura 3.7, es pot observar que l'histograma de la fotografia enfocada té més informació en tot l'espectre del nivell de lluminositat (rang de valors més ampli i allunyats del centre) respecte a la imatge desenfocada. Els valors de la variància normalitzada són 21,42 per la fotografia enfocada i 3,57 per la fotografia desenfocada.

Per calcular la variància normalitzada, s'utilitza la següent fórmula matemàtica:

$$F = \frac{1}{H \cdot W \cdot \mu} \sum_{Height} \sum_{Width} (i(x, y) - \mu)^2$$

On "H" és l'alçada de la fotografia (Height), "W" és l'amplada (Width), "i(x,y)" és la intensitat del píxel en la posició (x,y) de la imatge i "μ" és la mitjana dels nivells d'intensitats de tots els píxels.

La funció d'enfocament que genera aquest algoritme a partir dels bancs de fotografies és la següent:

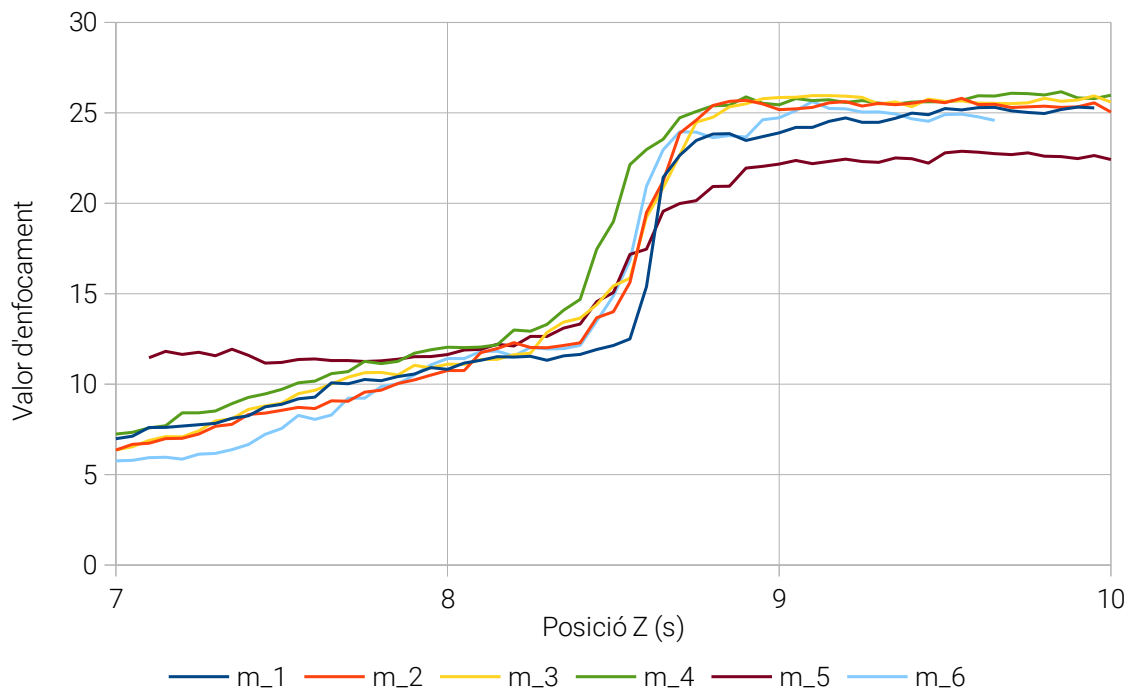


Figura 3.8. Funció d'enfocament de l'algoritme "Normalised Variance".

Cal destacar que la distància és en segons perquè no es tenen dades de la distància entre l'objectiu i la mostra. Per tant, es fa girar el motor a la mateixa velocitat i temps per a cada punt de la funció, així es coneixen els segons que ha girat el motor des de l'inici.

En la Figura 3.8, la mostra està enfocada en el punt 8,7s de la gràfica, on es pot apreciar una pujada en el valor d'enfocament de totes les funcions. Tot i això, a partir del punt on la fotografia està enfocada el valor d'enfocament es manté o segueix pujant lleugerament.

Aquest algoritme d'enfocament per si sol no seria adient, ja que no pot distingir el punt més enfocat de la mostra d'una forma clara. Malgrat això, es pot servir per saber si la mostra està en contacte amb l'objectiu, ja que marca dues zones clarament definides.

3.2.4. Algoritmes Derivatius

L'algoritme derivatiu que s'estudiarà com una de les alternatives és l'algoritme "Tenenbaum Gradient". També s'estudiarà conjuntament amb l'algoritme "Sobel Derivatives", ja que és l'algoritme utilitzat actualment.

Aquests dos algoritmes es basen en el fet que una imatge enfocada té les vores dels objectes més definides que una de desenfocada, on les vores estan difuminades i no es distingeixen de forma clara els objectes.

Amb aquest tipus d'algoritmes s'obté una imatge nova a partir de l'original, on es poden apreciar les vores dels objectes ressaltades:

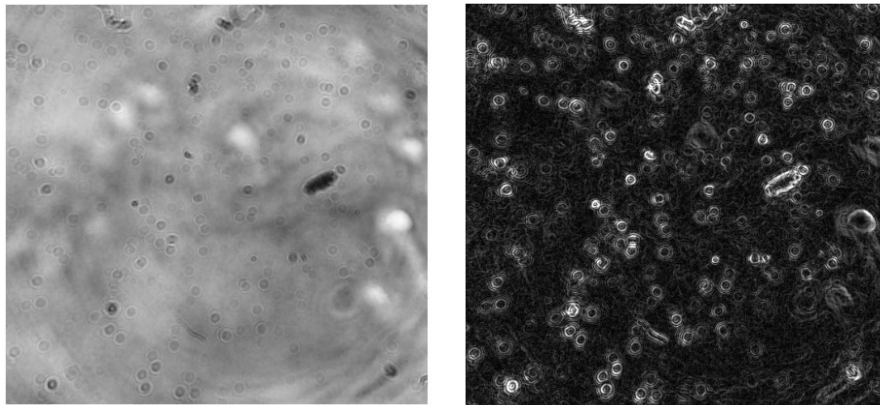


Figura 3.9. Imatge desenfocada (esquerra) i imatge després de passar-li l'algoritme derivatiu (dreta).

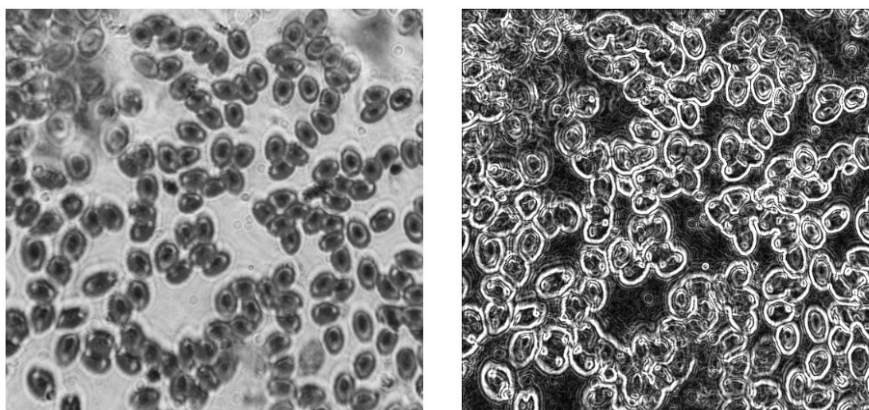


Figura 3.10. Imatge enfocada (esquerra) i imatge després de passar-li l'algoritme derivatiu (dreta).

En les fotografies processada amb l'algoritme, els colors clars representen les vores dels objectes i els colors foscos representen zones on no hi ha diferències de lluminositat. Es pot

observar que la fotografia enfocada de la Figura 3.10 té les vores dels objectes més ressaltades que la fotografia desenfocada de la Figura 3.9.

Els algorismes derivatius calculen els gradients d'intensitat dels píxels de la imatge; és a dir, accentuen les zones de la imatge on hi ha grans canvis en la intensitat dels píxels. Per aconseguir una imatge amb les vores dels objectes accentuades, l'algoritme fa una convolució amb els operadors de Sobel de la imatge original (12).

Una convolució, dins l'àmbit d'edició d'imatges, consisteix a multiplicar una matriu (la fotografia) per un altre de més petita anomenada "kernel" donant com a resultat una nova matriu (fotografia processada) (16). Per cada píxel de la imatge, el procés de multiplicar la imatge pel "kernel" és el següent:

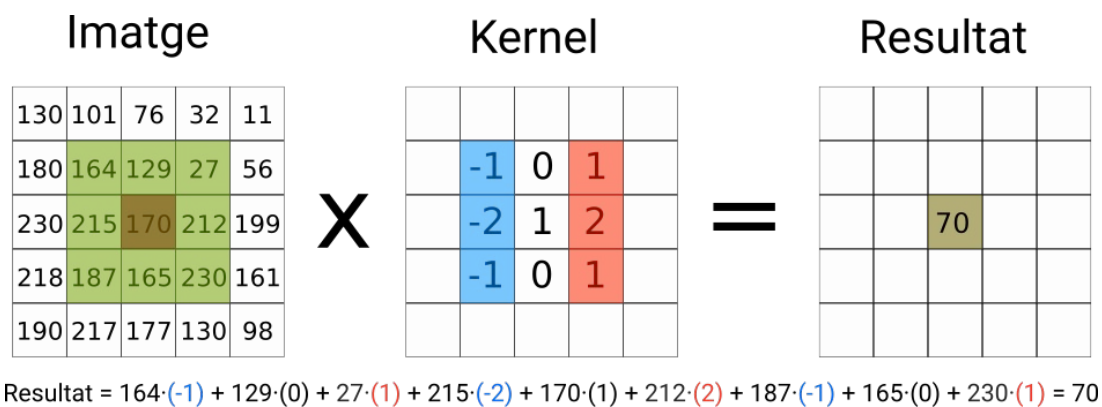


Figura 3.11. Esquema explicatiu d'una convolució.

En la matriu esquerra de la figura anterior, cada casella representa un píxel de la imatge el qual té un valor de lluminositat que pot anar del 0 al 255 (la fotografia està en blanc i negre).

Aquest procés es fa per cada píxel de la imatge. D'aquesta manera, s'obté una nova imatge a partir d'una fotografia original fent-li la convolució amb un "kernel".

El "kernel" utilitzat tant en l'algoritme "Sobel Derivatives" com "Tenenbaum Gradient" és l'operador de Sobel. En els dos algorismes, es fan dues convolucions a partir de la fotografia original amb l'operador Sobel X i l'operador Sobel Y:

$$S_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad S_y = \begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix}$$

A partir de fer la convolució d'una imatge amb els dos operadors de Sobel, obtenim dues imatges noves:

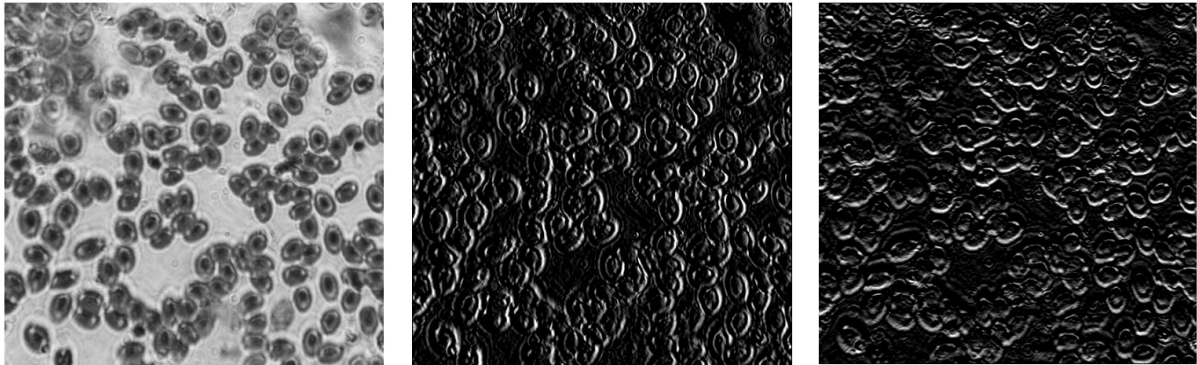


Figura 3.12. Fotografia original (esquerra), resultat de la convolució amb S_x (centre) i amb S_y (dreta)

Els algoritmes estudiats "Tenenbaum Gradient" i "Sobel Derivatives" calculen el valor d'enfocament a partir d'aquestes noves imatges obtingudes, però cadascun té el seu propi mètode.

L'algoritme "Tenenbaum Gradient" suma els quadrats dels valors d'intensitat dels píxels de les dues imatges S_x i S_y . La fórmula matemàtica de l'algoritme és la següent:

$$F = \sum_{Height} \sum_{Width} S_x(x, y)^2 + S_y(x, y)^2$$

On S_x i S_y són les imatges obtingudes respectivament amb l'operador de Sobel X i Y.

Aquest algoritme obté un valor que representa la quantitat de canvis de lluminositat dins la fotografia, és a dir, de les vores dels objectes.

En canvi, l'algoritme "Sobel Derivatives" primer suma els valors absoluts d'intensitat dels píxels de les dues imatges S_x i S_y :

$$S_{xy} = |S_x(x, y)| + |S_y(x, y)|$$

A continuació calcula la variància de la nova imatge S_{xy} de la mateixa manera que ho fa l'algoritme "Normalised Variance". El que fa l'algoritme "Sobel Derivatives" és un cop obtinguda la nova imatge, en calcula la variància de les intensitats lluminoses dels píxels (mesura del contrast). Com que les fotografies ben enfocades tenen les vores dels objectes més gruixudes (veure Figura 3.10), s'obté una variància més alta que no pas en una fotografia desenfocada.

Els dos algoritmes obtenen resultats semblants com a funció d'enfocament. Per l'algoritme "Sobel Derivatives" s'obté el següent gràfic per cada banc de fotografies:

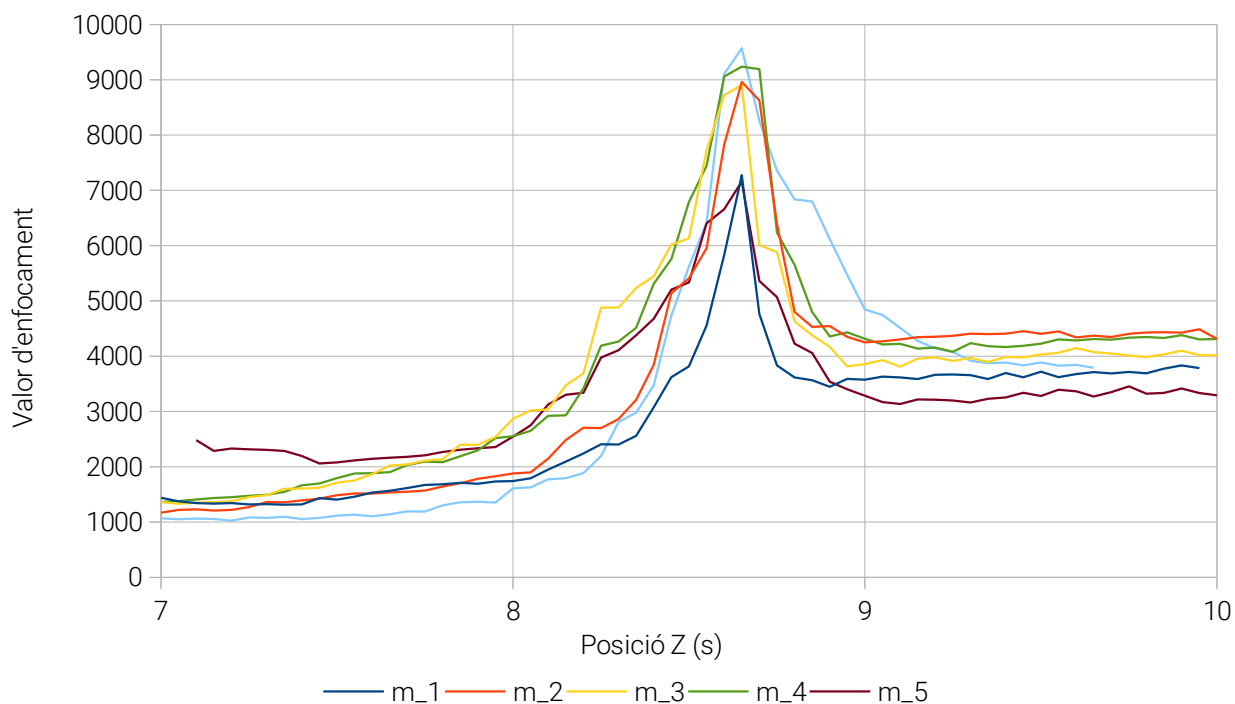


Figura 3.13. Funció d'enfocament de l'algoritme "Sobel Derivatives".

Per l'algoritme "Tenenbaum Gradient" s'obté el següent gràfic per cada banc de fotografies:

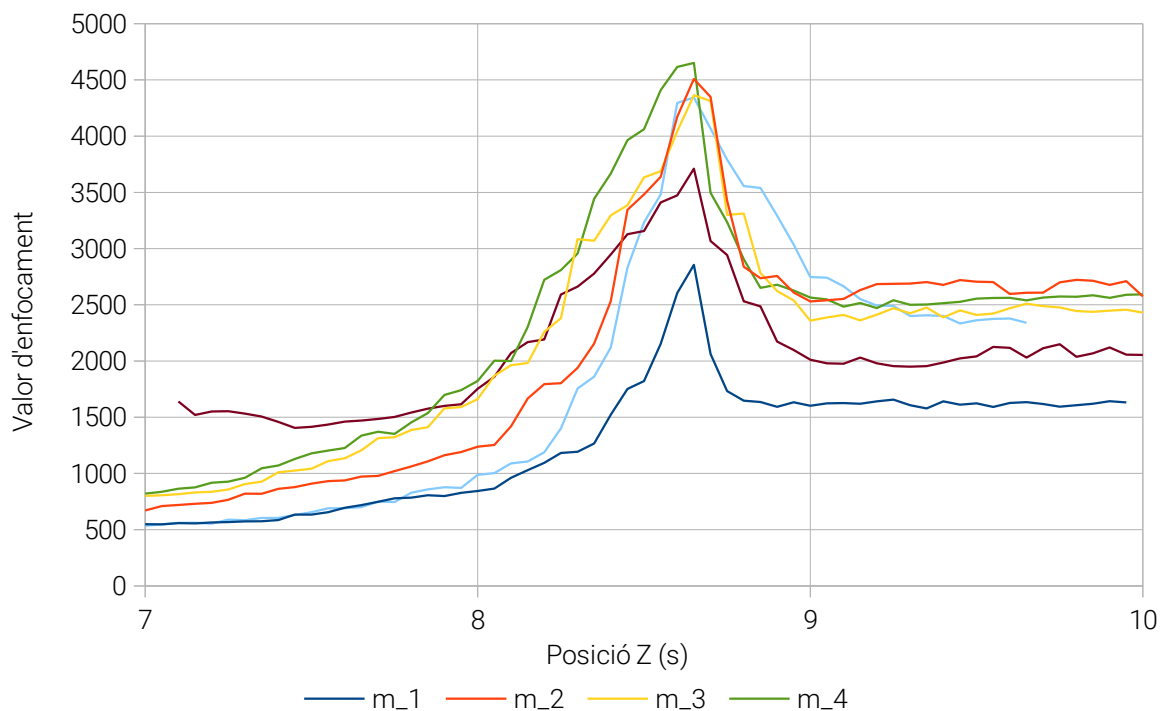


Figura 3.14. Funció d'enfocament de l'algoritme "Tenenbaum Gradient".

Aquests dos algoritmes són útils per buscar el punt d'enfocament, ja que el destaquen per sobre de les altres fotografies desenfocades. L'algoritme "Sobel Derivatives" té un pic més accentuat en el punt d'enfocament, la qual cosa fa que sigui encara més fàcil trobar el punt d'enfocament.

3.2.5. Algoritmes basats en l'histograma

L'algoritme basat en l'histograma que s'estudiarà com una l'última de les alternatives és l'algoritme "Range Algorithm".

Aquest algoritme es basa en el mateix principi que utilitzen els algoritmes estadístics, on es considera que com més contrast té una fotografia, més ben enfocada està. La diferència està en la forma de mesurar el contrast, ja que aquest algoritme busca la diferència entre el valor màxim i el mínim de l'histograma de la fotografia.

La fórmula matemàtica que representa aquest algoritme és la següent:

$$F = \max_i(h(i) > 0) - \min_i(h(i) > 0)$$

On "h(i)" representa la funció histograma. Gràficament, aquest algoritme busca aquests valors 'x' màxims i mínims de l'histograma on la funció és 0, i en busca la distància:

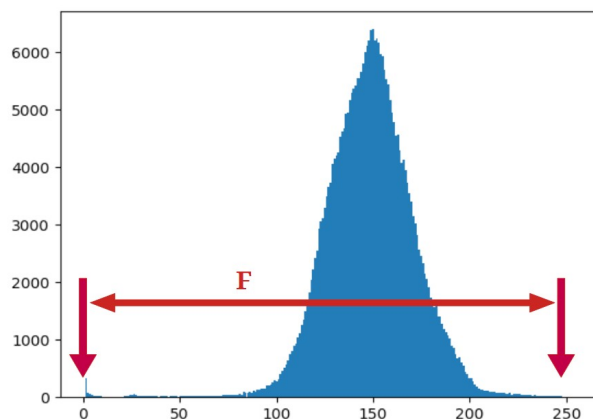


Figura 3.15. Càlcul de l'algoritme de forma gràfica en un histograma.

La funció d'enfocament que genera aquest algoritme a partir del banc de fotografies:

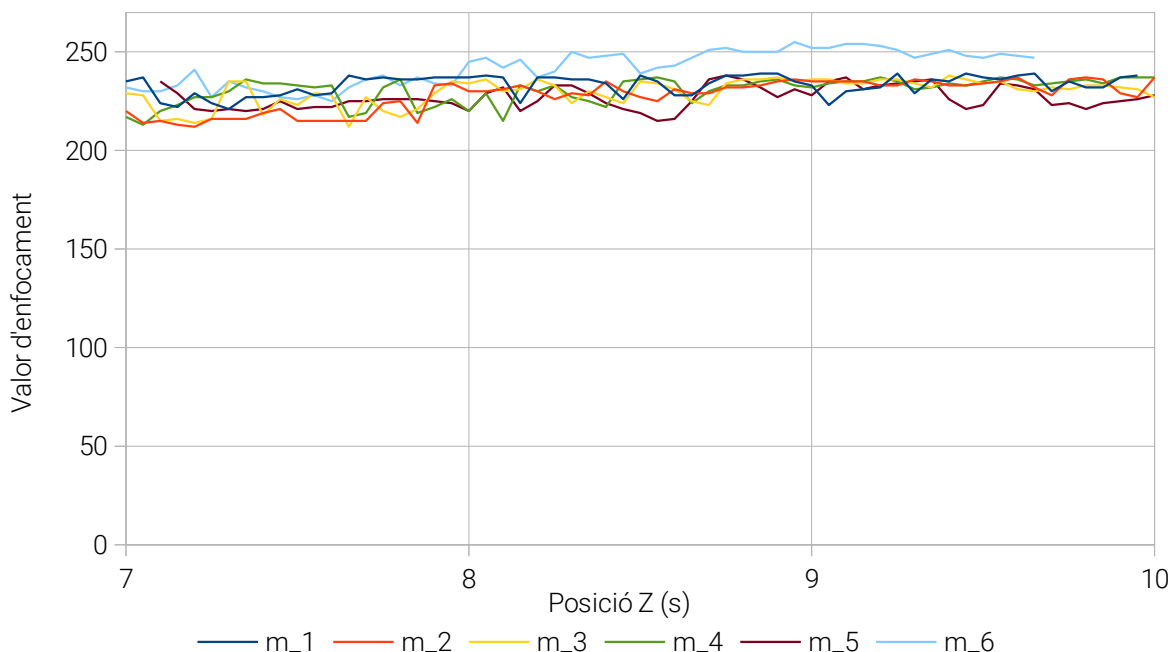


Figura 3.16. Funció d'enfocament de l'algoritme "Range".

Amb aquest algoritme no es pot distingir si la mostra està enfocada o no, ja que té més d'un màxim en tot el seu domini i a més no destaca el punt d'enfocament real (aproximadament als 8,7 s). Aquest algoritme en cap cas és útil per al nou prototip del microscopi.

3.2.6. Comparació de les diferents alternatives

Dels algoritmes presentats com a alternatives, només els algoritmes "Tenenbaum Gradient" i "Sobel Derivatives" compleixen els criteris per a trobar correctament el punt d'enfocament. L'algoritme "Normalised Variance" no destaca el punt d'enfocament d'una forma clara, però sí que incrementa el valor d'enfocament a partir que s'ha enfocat, per tant s'inclourà en les proves.

Per comprovar-ne la robustesa i fiabilitat dels algoritmes, es modificaran les fotografies amb les quals s'han provat els algoritmes anteriorment per veure com es comporten en les següents situacions:

- Fotografies a baixa resolució.
- Fotografies amb soroll.

Anteriorment s'han provat els algoritmes amb fotografies a resolució 1280x720 píxels. La nova prova es realitzarà amb fotografies a resolució 640x360, és a dir, un 75% menys de píxels per imatge i per tant menys informació:

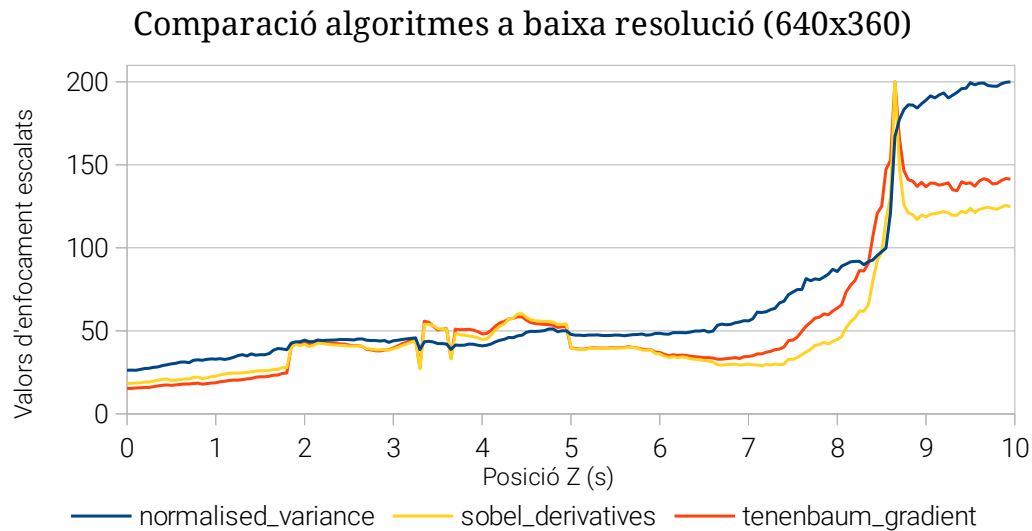


Figura 3.17. Comparació de diferents algoritmes a baixa resolució.

L'objectiu de la prova anterior és veure si els algoritmes són útils per enfocar a baixes resolucions, ja que treballar amb una resolució inferior permetrà més velocitat de computació. En la Figura 3.17 es pot observar que els algoritmes treballen de la mateixa manera a baixa resolució com a alta resolució. Aquesta és la mínima resolució que s'ha trobat on els algoritmes funcionen correctament sense afectar-ne el rendiment.

La següent prova consisteix a afegir soroll artificial a les imatges. En el cas real, el soroll és provocat pel sensor que capta la fotografia. Com més sensibilitat té el sensor, més ràpid pot realitzar les fotografies però també més soroll apareix en les imatges.

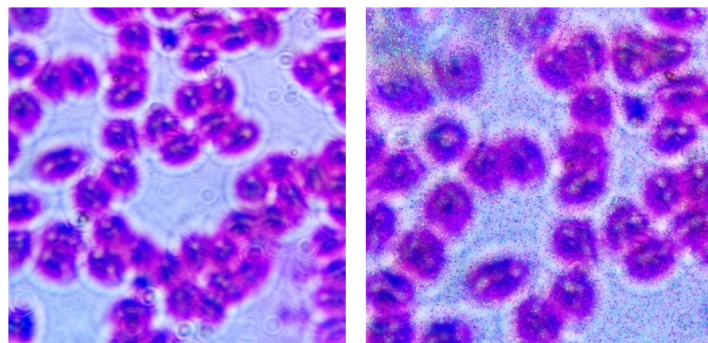


Figura 3.18. Fotografia original (esquerra) i fotografia amb soroll afegit (dreta).

El comportament dels algoritmes amb soroll afegit és el següent:

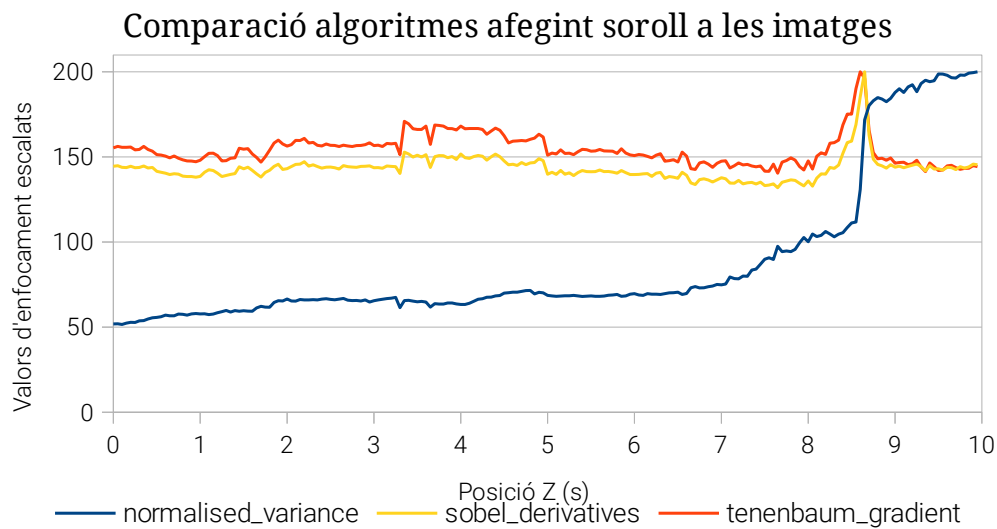


Figura 3.19. Comparació de diferents algoritmes amb soroll afegit a les imatges.

Es pot observar que l'algoritme "Normalised Variance" no ha experimentat cap canvi. L'algoritme "Tenenbaum Gradient" té el màxim de la funció en una fotografia desenfocada, per tant el soroll ha afectat negativament la precisió. En canvi, l'algoritme "Sobel Derivatives" ha funcionat correctament i la funció d'enfocament s'ha estabilitzat al llarg del domini.

Finalment, es farà una comparació dels tres algoritmes per veure'n el temps d'execució a diferents resolucions:

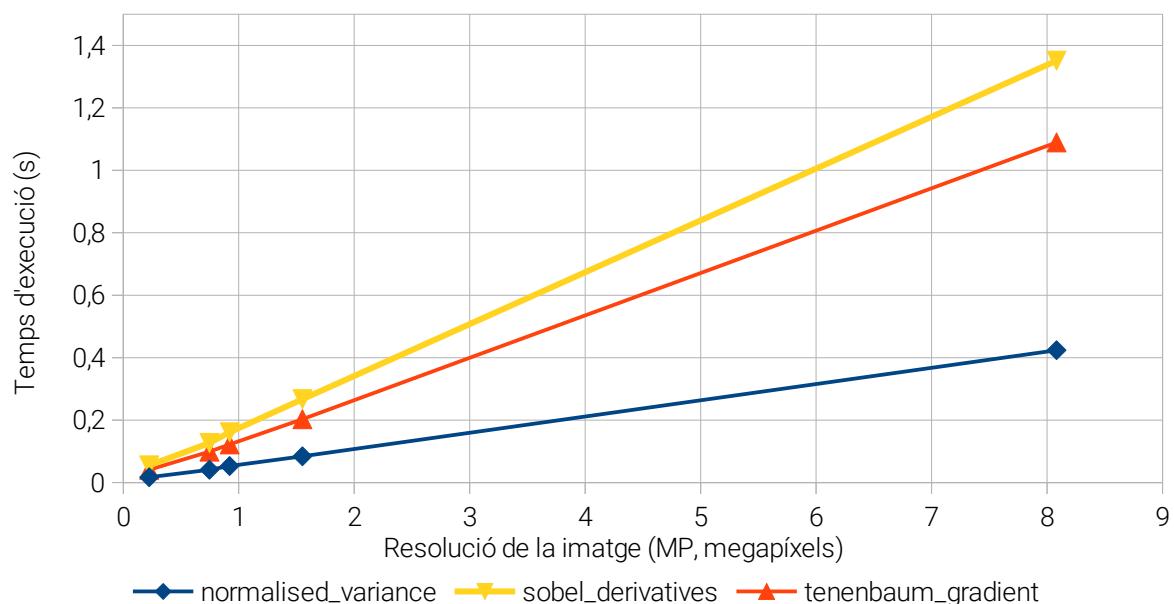


Figura 3.20. Figura 3.x. Temps d'execució dels algoritmes respecte la resolució de la imatge.

S'observa que el temps d'execució dels algoritmes és proporcional a la resolució de les imatges. L'algoritme "Normalised Variance" és el més ràpid dels tres. Els tres algoritmes a baixes resolucions tenen un temps d'execució molt petit i semblant, però a altes resolucions els algoritmes "Sobel Derivatives" i "Tenenbaum Gradient" tenen un temps d'execució excessiu.

3.2.7. Selecció algoritme d'enfocament

Un cop s'han comparat les possibles alternatives, es farà una selecció basant-se en els criteris mostrats anteriorment en l'apartat 3.2.2. *Generalitats dels algoritmes d'enfocament* i en les proves de l'anterior apartat.

Segons el criteri de "Unimodalitat" només hi pot haver un màxim en la funció d'enfocament. Es descarta l'algoritme "Normalised Variance", ja que el valor d'enfocament segueix incrementant tot i haver passat pel punt d'enfocament.

Els algoritmes "Sobel Derivatives" i "Tenenbaum Gradient" compleixen la resta de criteris, els quals són:

- Precisió: El màxim de la funció ha de ser a la posició on la fotografia està més enfocada.
- Reproductibilitat: El pic de la funció ha de ser agut, el qual permet una bona reproductibilitat de l'algoritme.
- Rang: Al voltant del màxim de la funció ha de ser el més pla possible, sense tenir màxims locals a prop.
- Implementació: L'algoritme ha de ser fàcil implementar.

L'algoritme "Sobel Derivatives" és superior respecte al criteri de Reproductibilitat, ja que el pic de la funció és més agut en la posició d'enfocament fins i tot en baixa resolució. També ha demostrat ser més robust pel que fa a l'existència del soroll en la imatge. L'algoritme "Tenenbaum Gradient" és més ràpid, però a baixes resolucions la diferència entre un i l'altre és molt petita.

Per tots aquests motius, es considera que el millor algoritme d'enfocament per l'actual prototip del microscopi segueix sent "Sobel Derivatives", revalidant-se com a millor alternativa.

3.3. Sensors

3.3.1. Comparació alternatives de sensors

En aquest apartat es presentaran les diferents alternatives de sensors. Se seleccionarà l'opció més adient per a millorar el procés automàtic d'obtenció d'imatges del microscopi AIScope.

Un sensor és un element electrònic que permet mesurar magnituds físiques i/o químiques de l'entorn i transformar-les en senyal elèctric. Aquest senyal elèctric pot ser analògic o digital, el qual és interpretat per un controlador(17).

Els senyals analògics permeten una lectura contínua, com per exemple un sensor que mesura distàncies. En canvi, els senyals digitals són discrets i no permeten una lectura contínua. Hi ha sensors digitals que només utilitzen dos estats (encès/apagat) i n'hi ha que transformen un senyal analògic a digital i el transmeten cap a un controlador mitjançant protocols de transmissió de dades digitals.



Figura 3.21. Sensor digital d'ultrasons per mesurar distàncies. ("Medir distancia con Arduino y sensor de ultrasonidos HC-SR04", ArduProject)

La implementació de sensors pretén que el microscopi pugui posicionar el carro amb la mostra en un punt inicial, des del qual començarà tot el procés. D'aquesta manera, el microscopi sempre realitza el mateix diagnòstic i comença els moviments des d'un punt de referència. Si hi ha algun problema a la meitat del procés o no s'ha finalitzat correctament, el microscopi ha de ser capaç de començar de nou sense que s'hagi de fer cap intervenció.

En aquesta comparació d'alternatives no es tindran en compte els sensors analògics, ja que la placa Raspberry Pi no hi està preparada. Sí que existeixen transformadors de senyal analògic a digital, però això seria un augment del cost de la implementació i també de la seva complexitat. Hi ha molts tipus de sensors digitals que poden servir per als mateixos propòsits.

Com ja s'ha mencionat en l'apartat 2.4.4. *Conclusions de l'anàlisi del prototip actual*, l'actual prototip de microscopi no té cap forma de conèixer on està situat el carro mòbil.

Els sensors que es volen incloure en aquest microscopi tindran tres funcions:

- Conèixer la posició del carro per posicionar-lo a l'inici del diagnòstic.
- Com a sistema de seguretat, de tal manera que el carro no se surti de les guies o no es trenqui cap peça per culpa de forçar els servomotors.
- Un dels sensors ha de permetre que el carro amb el portaobjectes s'apropi al màxim a l'objectiu, per reduir el temps necessari d'enfocar la mostra.

Per tant, seguint aquestes premisses, els sensors que es volen implementar han de limitar el moviment del carro en les direccions X, Y i Z entre una posició mínima i una màxima. D'aquesta manera, es podrà col·locar el carro en una posició inicial i com a molt es podrà moure fins a una posició màxima, protegint així els elements del microscopi.

Segons la tecnologia usada faran falta entre 3 i 6 sensors per les funcions que s'han descrit. El sensor que permet l'apropament de la mostra a l'objectiu ha de ser precís, ja que la profunditat de camp de l'objectiu és molt petita. Indirectament, aquest sensor també fa la funció de limitar la posició màxima del carro en l'eix Z.

Hi ha dues maneres d'aproximar la solució:

- **Sensors de proximitat/contacte:** Detecten si un objecte està dins la zona de detecció on treballen.
- **Sensors de distància:** Mesuren la distància entre el sensor i l'objecte.

En el microscopi, els sensors de proximitat/contacte permetrien saber si el carro ha arribat a les posicions mínimes o màximes dels eixos X, Y o Z. Els sensors de distància, permetrien conèixer la posició a la qual es troba el carro en qualsevol dels eixos a partir d'un punt de referència. Per tant, qualsevol de les dues aproximacions pot aconseguir el mateix objectiu, però el que canvia és la manera d'implementar els sensors al microscopi.

Els sensors de distància també es poden convertir en sensors de proximitat, ja que poden funcionar de tal manera que s'activin a una distància concreta entre el sensor i l'objecte.



En les següent pàgines es mostra la Taula 3.1 i la Taula 3.2, on es comparen diferents alternatives per als sensors(17)–(22). Els sensors de qualitat industrial no es tindran en compte per raons de preu.

Sensor	Tipus	Funcionament	Avantatges	Inconvenients	Implementació	Cost / Unitat
Interruptor electromecànic (final de carrera)	Contacte	Detecten la presència d'un objecte quan aquest entra en contacte amb el sensor. Quan l'objecte entra en contacte amb el sensor, s'activa un l'interruptor de la sortida digital.	Molt simple. Només consumeix electricitat quan s'activa. Dimensions reduïdes.	El sensor entra en contacte amb l'objecte, per tant hi pot haver degradació tant del sensor com de l'objecte.	Fàcil	0,83 €/u (UKCOCO)
Inductiu	Proximitat	Generen un camp electromagnètic. Detecten la proximitat d'objectes metàl·lics basant-se en la llei d'inducció. Quan l'objecte metàl·lic és detectat, s'activa l'interruptor del senyal de sortida digital.	Útil per treballar en ambients severos. Bona precisió per detectar objectes metàl·lics.	Consum elèctric elevat per la Raspberry Pi. Només detecten objectes metàl·lics. Dimensions grans.	Difícil	5,39 €/u (LJ12A3-4-Z/BY)
Capacitiu	Proximitat	Generen un camp electroestàtic. Detecten la proximitat d'objectes quan hi ha canvi en el camp electroestàtic, provocat per un objecte amb una constant dielèctrica diferent de l'aire. Quan l'objecte és detectat, s'activa l'interruptor de la sortida digital.	Detecten tant objectes metàl·lics com no metàl·lics. Útil per treballar en ambients severos. Bona precisió per detectar objectes.	Consum elèctric elevat per la Raspberry Pi. Dimensions grans.	Difícil	4,78 €/u (LJ12A3-4-Z/BY)
Fotoelèctric	Proximitat	Tenen un emissor i un receptor. Emeten un raig de llum (infraroja, visible, LED o làser) i detecten els canvis en la quantitat de llum que capta el receptor. Quan canvia la quantitat de llum a un determinat valor, s'activa l'interruptor de la sortida digital.	Flexibilitat en la seva implementació: Diferents tipus com de barrera, de reflexió o de retro-reflexió.	Poden tenir problemes o comportaments diferents segons la superfície que detectin (en el cas dels reflexius).	Fàcil.	2,00 €/u (ICQUANZX)

Taula 3.1. Comparació de les diferents alternatives pels sensors 1/2.

Sensor	Tipus	Funcionament	Avantatges	Inconvenients	Implementació	Cost / unitat
Sensor d'ultrasons	Distància	Tenen un emissor i un receptor. Emeten ones sonores a alta freqüència que són reflectides per l'objecte i són captades pel receptor. Calculen la distància entre el sensor i l'objecte a partir del temps entre l'emissió i la recepció. El sensor envia un senyal digital quan rep l'ona reflectida i el controlador fa el càlcul de la distància.	Baix consum energètic. Distància de detecció llarga. Tenen una resolució de 2 mm aproximada.	No són aptes per objectes amb geometries complexes, ja que l'àrea de detecció és molt àmplia. No útils per petites distàncies, mínima distància de detecció de 3 cm. Poca precisió i estabilitat de mesura.	Mitjana	2,25 €/u (HC-SR04)
Sensor d'infrarojos	Distància	Tenen un emissor i un receptor. Emeten llum en l'espectre infraroig la qual és reflectida per l'objecte i és captada pel receptor. Calculen la distància entre el sensor i l'objecte a partir de l'angle amb què rep la llum reflectida. A partir d'una distància concreta, s'activa l'interruptor de la sortida digital. També es pot usar per mesurar la distància amb un senyal de sortida analògica.	Distància de detecció llarga. Poden treballar amb superfícies complexes d'objectes. Tenen una resolució de 2 mm aproximadament.	No útils per petites distàncies, mínima distància de detecció de 2 cm. Dimensions grans.	Mitjana	1,3 €/u (Electrely, LM 33)
Sensor laser (LiDAR)	Distància	Tenen un emissor i un receptor. Emeten llum làser la qual és reflectida per l'objecte i captada pel receptor. Calculen la distància entre el sensor i l'objecte a partir del temps entre l'emissió i la recepció. La distància s'envia al controlador mitjançant un protocol digital.	Distància de detecció llarga. Tenen una resolució de 1 mm aproximada.	Mínima distància de detecció de 10 cm.	Mitjana.	7,76 €/u (TECNOIOT, VL53L0X)

Taula 3.2. Comparació de les diferents alternatives pels sensors 2/2.

3.3.2. Selecció sensors

Es triaran dos tipus de sensors. El primer tipus serà utilitzat per posicionar el carro en els eixos X, Y i Z a l'inici i final de procés, però també esporàdicament com a seguretat per protegir els components del microscopi. El segon tipus de sensor ha de permetre apropar la mostra a l'objectiu amb precisió, per tant, també serveix per posicionar el carro en l'eix Z.

Sensor de posició

Si s'utilitzen sensors de proximitat i/o de contacte es necessitarien cinc sensors: dos per l'eix X, dos per l'Y i un per al Z (com s'ha comentat anteriorment, el un dels sensors Z serveix per apropar la mostra l'objectiu). En el cas d'utilitzar sensors de distància per al mateix propòsit, es necessitarien tres sensors, un per cada eix X, Y i Z.

Es descarten els sensors de distància d'ultrasons, ja que l'estructura del microscopi és complexa i hi podria haver interferències amb els mateixos components del microscopi. Aquestes interferències provocarien una lectura errònia de la distància. A part d'això, en aquest tipus de sensors el valor de lectura no és gaire estable i va oscil·lant entre 1 o 2 mm, la qual cosa no és desitjable perquè les mides de la mostra són de pocs centímetres.

Els sensors de distància de làser i infrarojos també es descarten perquè la seva distància mínima de detecció (2-3 cm) és gran respecte les dimensions del microscopi. Per consegüent, la seva implementació requeriria fer molts canvis en el disseny i augmentar-ne les dimensions. A més, com que l'ús d'aquests sensors és puntual durant el procés, no cal conèixer la posició del carro permanentment.

Així doncs, s'optarà per cinc sensors de proximitat o de contacte. Els sensors inductius i capacitius tenen unes dimensions més grans i també un preu més elevat que els fotoelèctrics o els electromecànics. Les dimensions dels sensors inductius i capacitius a més de l'alt consum elèctric fan que la implementació al microscopi resulti més difícil i costosa.

Tant els sensors fotoelèctrics com els sensors electromecànics tenen propietats semblants. L'avantatge principal dels sensors fotoelèctrics és que detecten objectes sense entrar-hi en contacte. Tot i això, el preu d'un sensor electromecànic és 4-5 vegades més econòmic que un fotoelèctric.

La implementació dels sensors electromecànics és senzilla per les seves dimensions reduïdes i el seu baix consum elèctric, ja que només consumeix electricitat quan s'activa. El principal inconvenient és que s'activen per contacte, però en aquesta aplicació no és cap inconvenient, ja que el microscopi és prou robust.

Com que no es necessita un sensor de gaire qualitat per l'ús que se li vol donar, s'escollirà el sensor electromecànic de final de carrera per la seva simplicitat, bona implementació i preu econòmic. La seva implementació requerirà un redisseny d'alguns components del microscopi.



Figura 3.22. Sensor electromecànic de final de carrera ("Final de Carrera con Rueda", Iberrobotics)

Sensor d'apropament

El segon tipus de sensor ha de ser capaç d'apropar al màxim la mostra a l'objectiu. Com ja s'ha comentat anteriorment, la profunditat de camp de l'objectiu pot arribar a ser inferior al mil·límetre. Si el sensor és capaç d'apropar la mostra fins a la distància Z on la mostra està enfocada, el temps d'enfocament es podria reduir notablement.

Per un millor comportament s'hauria d'evitar el contacte entre el sensor i el carro/portaobjectes pels següents motius:

- Aquest sensor treballarà durant tot el procés, ja que ha d'apropar la mostra a l'objectiu per cada nova fotografia a enfocar. No es pot permetre el desgast del sensor i/o dels components del microscopi, ja que a la llarga es perdria la precisió.
- El contacte entre el sensor i el carro podria desestabilitzar el portaobjectes i que aquest no estigui perfectament perpendicular amb l'eix de l'objectiu. És important que

el pla de la mostra estigui a 90° amb l'eix de l'objectiu perquè es pugui enfocar correctament la mostra.

Es descarten els sensors electromecànics perquè funcionen per contacte.

Els sensors de distància tenen com a principal inconvenient la seva resolució. Tot i que són precisos per certes aplicacions, no solen tenir una resolució més petita d'1 mm. Com que la profunditat de camp d'un microscopi és tan petita, amb un sensor de distància seria molt difícil poder-se apropar a la mostra amb la precisió requerida.

Un sensor de proximitat permet tenir més precisió que un sensor de distància si s'ajusta correctament. Els sensors capacitius i inductius serien una bona opció, però el principal inconvenient és que consumeixen més corrent del que permet la placa Raspberry Pi. La seva implementació requeriria una font d'energia externa i un redisseny del microscopi per poder col·locar-los, cosa que incrementaria substancialment el cost del microscopi.

Així doncs, la millor alternativa que s'ha trobat és utilitzar un sensor fotoelèctric de barrera. De la mateixa manera que els sensors inductius i capacitius, els sensors fotoelèctrics detecten els objectes sense haver-hi d'estar en contacte. L'avantatge d'aquest tipus de sensor és que té un funcionament simple i consumeix poca electricitat. Com els sensors de posició, la implementació requerirà un redisseny d'alguns components del microscopi.



Figura 3.23. Sensor fotoelèctric de barrera ("Fotointerruptor", BricoGeek)

4. DESENVOLUPAMENT NOU PROTOTIP I SOFTWARE

4.1. Introducció

En aquest apartat es desenvoluparà la implementació dels sensors escollits i de l'algoritme d'enfocament en el nou prototip del microscopi.

S'adaptarà l'estructura del microscopi per incloure els nous sensors, els quals aniran connectats a la placa Raspberry Pi. A continuació, es desenvoluparà el software que controla el procés automàtic d'obtenció de fotografies a partir de l'algoritme d'enfocament «Sobel Derivatives». El software es programarà amb el llenguatge de programació Python i s'escriurà en anglès per facilitar la seva interpretació per a futurs col·laboradors del projecte AIScope.

El programa dissenyat en aquest projecte funcionarà amb una càmera connectada directament a la placa Raspberry Pi. A la versió final del microscopi no es connectarà aquesta càmera, sinó que s'utilitzarà un telèfon intel·ligent per gestionar tot el procés de presa d'imatges. Aquest es comunicarà amb la Raspberry Pi per moure els elements del microscopi. Tot i això, en aquest treball es vol millorar el sistema d'enfocament, per tant es faran totes les millores sense tenir en compte la connectivitat entre microscopi mòbil. Les millores obtingudes a partir d'aquest projecte es podran exportar al disseny final del microscopi.



Figura 4.1. Raspberry Pi Camera Module V2 ("Camera Module V2", Raspberry Pi Foundation)

Per a fer les proves, es col·locarà un LED per il·luminar la mostra de forma provisional a la base del carro mòbil.

4.2. Implementació sensors de posició

4.2.1. Funcionament i connexió dels sensors de posició

Els sensors de posició escollits són els finals de carrera mecànics o també anomenats interruptors de límit. Aquests sensors se situen al final del recorregut d'un element mòbil, el qual entra en contacte amb el sensor i l'acciona de forma mecànica. El funcionament d'aquest sensor és el d'un simple interruptor mecànic, com es pot veure en l'esquema a continuació:

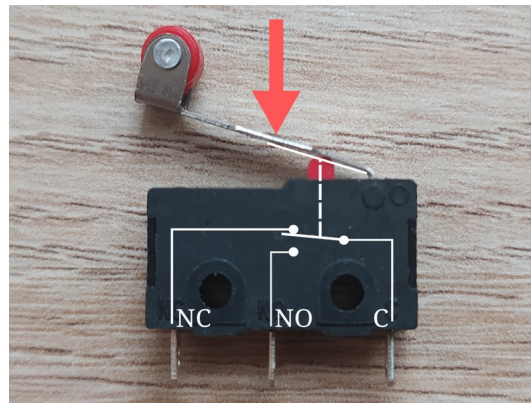


Figura 4.2. Esquema funcionament sensor final de carrera.

El contacte "NC" correspon a Normalment Tancat, "NO" a Normalment Obert i "C" al Comú. Quan el sensor no està accionat, els contactes NC i C queden connectats elèctricament. Si s'acciona el sensor, és a dir, la lleva es desplaça en la direcció de la fletxa de la Figura 4.2, llavors es connecten C i NO.

Aquest sensor es connectarà amb la placa Raspberry Pi, la qual té diferents pins que poden funcionar tant d'entrada digital com de sortida digital (GPIO). La distribució d'aquests pins és la següent:

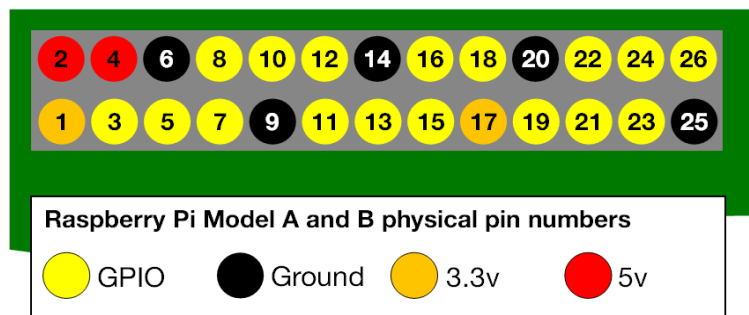


Figura 4.3. Distribució de pins a la placa Raspberry Pi ("Using a push button with Raspberry Pi GPIO", Raspberry Pi HQ)

La connexió d'aquest sensor amb la placa Raspberry Pi és la següent (la distribució dels pins està girada respecte la Figura 4.3):

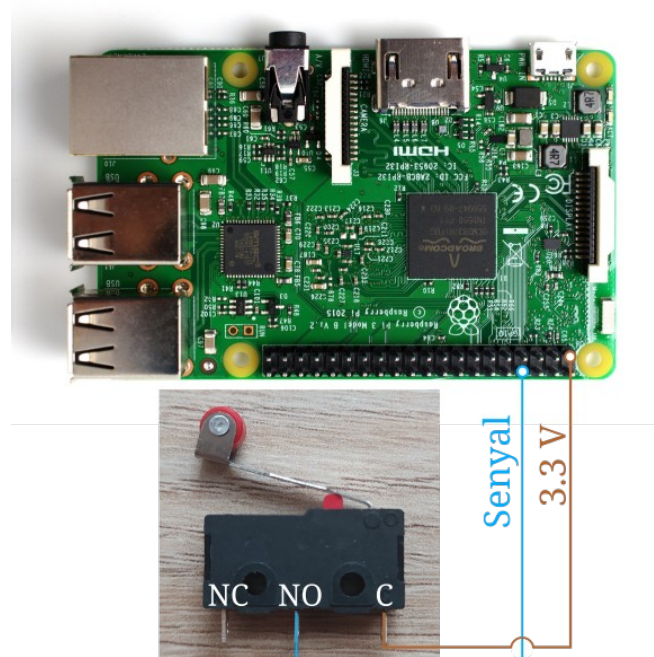


Figura 4.4. Esquema connexió sensor final de carrera.

El contacte C es connecta al pin de 3.3V i el contacte NO a un dels pins d'entrada digital de la Raspberry Pi. Si el sensor no està activat, la "senyal" serà baixa (0V). Quan s'activa el sensor, NO i C queden connectats i la "senyal" d'entrada canvia a estat alt (3.3V). La placa Raspberry Pi és capaç de diferenciar si en un pin d'entrada hi ha 3.3V (estat alt "1") o 0V (estat baix "0"). D'aquesta manera es detecta quan un objecte arriba al final del seu recorregut.

4.2.2. Ubicació dels sensors de posició al microscopi

Els sensors de final de carrera es col·locaran al microscopi de tal manera que limitin els moviments del carro en els tres eixos X, Y i Z. Així doncs, la posició dels sensors ha de ser en funció de les dimensions de la mostra i de l'estructura del microscopi.

El portaobjectes és l'element que conté la mostra i les seves dimensions estàndard segons la norma DIN ISO 8037-1 són de 76 x 26 mm, amb un gruix entre 1 i 1,5 mm (23). Sovint s'utilitza un cobreobjectes que es posa sobre la mostra, el qual és un tros de vidre molt prim que serveix per protegir-la de l'objectiu i viceversa. Hi ha diferents dimensions de cobreobjectes, però les més usuals solen ser de 18 x 18 mm.



Figura 4.5. Portaobjectes i cobreobjectes ("Portaobjetos para microscopio", Mundo Microscopio)

En el cas del microscopi AIScope, no és possible observar una mostra de 18 x 18 mm perquè l'estructura del prototip actual no ho permet. A conseqüència, els sensors que limiten el desplaçament en l'eix X i Y s'han col·locat de tal manera que permetin desplaçar la mostra en una àrea de 15 x 15 mm.

Per saber quantes fotografies es poden fer d'una mostra, s'ha calculat l'àrea que s'observa a través de l'objectiu de forma aproximada. Per una mostra de 15 mm de llarg s'han fet fins a 75 fotografies sense que se superposin (5 fotografies per mil·límetre lineal). Així doncs, l'àrea que s'observa amb el microscopi és un cercle de 0,2 mm de diàmetre.

Així doncs, per cada mm² de la mostra es poden fer 25 fotografies. Com que la mida màxima de la mostra observable és de 15 x 15 mm, el microscopi podrà prendre fins a 5625 fotografies de la mostra diferents.

En les següents pàgines es mostra la ubicació dels sensors de posició al microscopi.

Els sensors de posició que limiten el moviment del carro en l'eix X s'han ubicat al microscopi com es mostra en la Figura 4.6 i Figura 4.7:

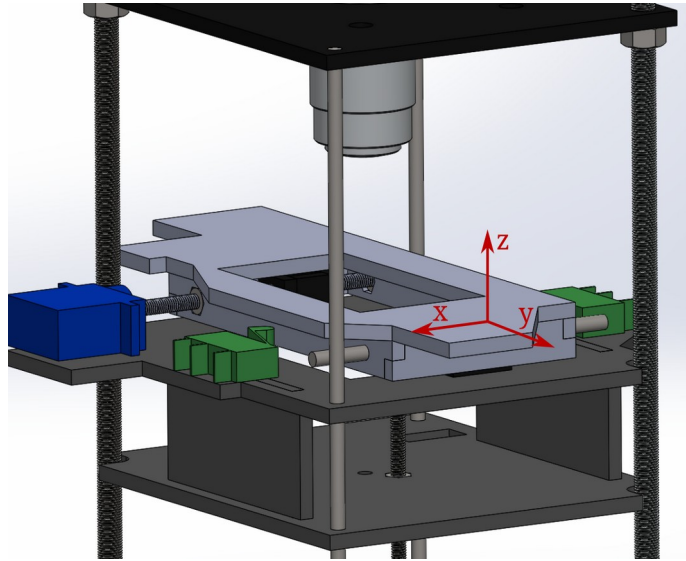


Figura 4.6. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix X (1/2)

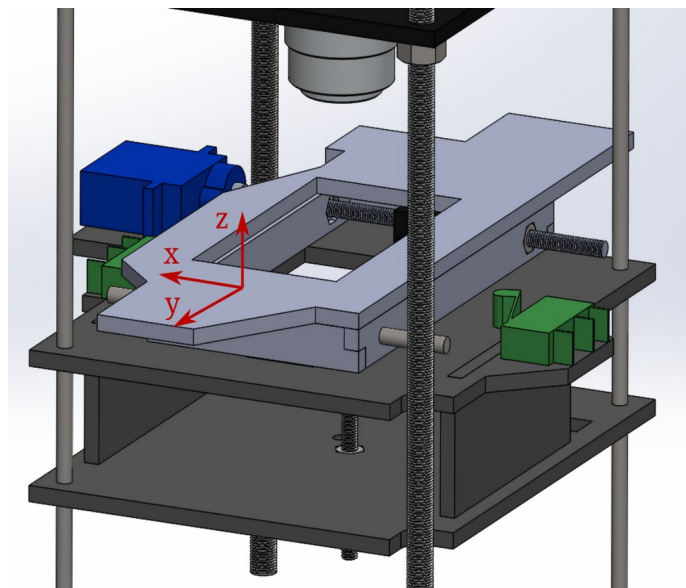


Figura 4.7. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix X (2/2)

Els sensors de posició X (verd) estan fixats al carro mòbil (gris fosc), el qual només es pot moure en l'eix Z. La "base del moviment en X" (gris clar) fa un moviment relatiu respecte al carro, traslladant-se horitzontalment en l'eix X. Els sensors de posició s'activen quan aquesta base es desplaça i hi entra en contacte. Aquests s'han col·locat de tal manera que la base es pugui desplaçar al llarg de 15mm en aquesta direcció. El punt mitjà d'aquest recorregut coincideix que l'objectiu està centrat a la mostra.

A sobre de la "base del moviment en X" de les figures 4.6 i 4.7, s'hi col·loca la "base del moviment en Y". Els sensors de posició que limiten el moviment del carro en l'eix Y s'han ubicat al microscopi com es mostra en la Figura 4.8 i Figura 4.9:

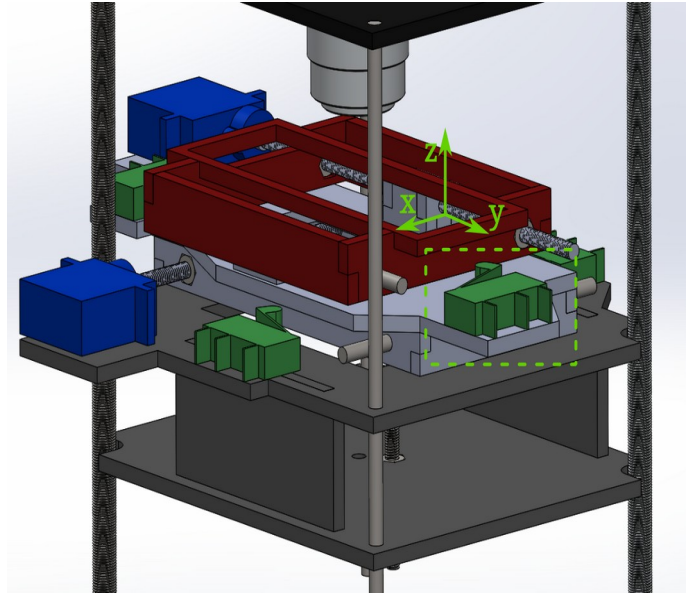


Figura 4.8. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix Y (1/2)

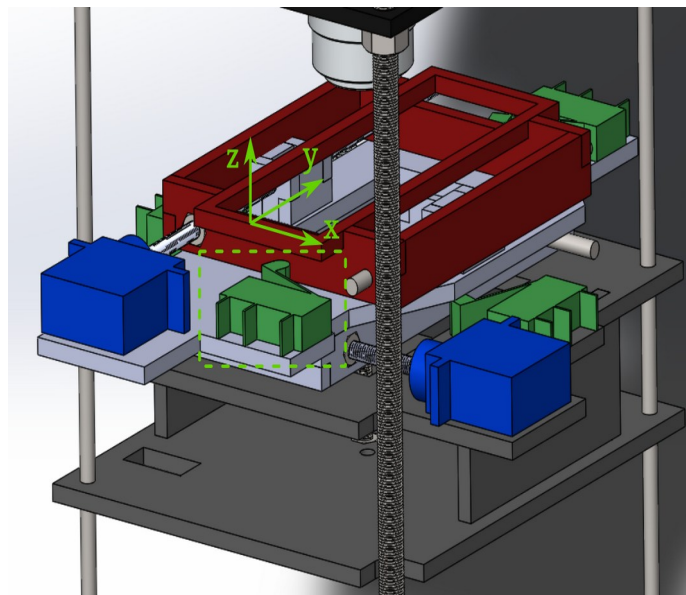


Figura 4.9. Modelat 3D del microscopi, sensors posició eix Y (2/2)

Els sensors de posició Y (verd) estan fixats a la "base del moviment en X" (gris clar), la qual només es pot moure en l'eix X. La "base del moviment en Y" (vermell) fa un moviment relatiu respecte a la "base del moviment en X", traslladant-se horitzontalment en l'eix Y. Els sensors de posició s'activen quan la "base del moviment en Y" es desplaça i hi entra en contacte.

La disposició dels sensors fa que el moviment en l'eix Y també estigui limitat a un recorregut de 15 mm. En el punt mitjà del recorregut la mostra queda centrada amb l'objectiu.

El portaobjectes amb la mostra està col·locat en una peça fixada a la "base del moviment en Y". Per tant, la mostra es pot desplaçar en les tres direccions X, Y i Z gràcies als tres sistemes de moviment: el carro, la "base del moviment en X" i la "base del moviment en Y".

Tot el carro mòbil, inclosos tots els components anteriorment mencionats, es trasllada en la direcció Z. Per delimitar aquest moviment, es col·locarà un sensor de posició per tal que el carro se situï a una distància allunyada de l'objectiu. Aquesta posició del carro servirà per poder extreure la mostra del microscopi amb comoditat.

El sensor que delimita el moviment en l'eix Z quan el carro s'apropa a l'objectiu és el sensor fotoelèctric d'apropament, el qual es descriurà a l'apartat *4.3. Implementació sensor d'apropament*.

El sensor de final de carrera per l'eix Z s'ha col·locat tal com mostra a la Figura 4.10, a la part inferior de l'estructura del microscopi:

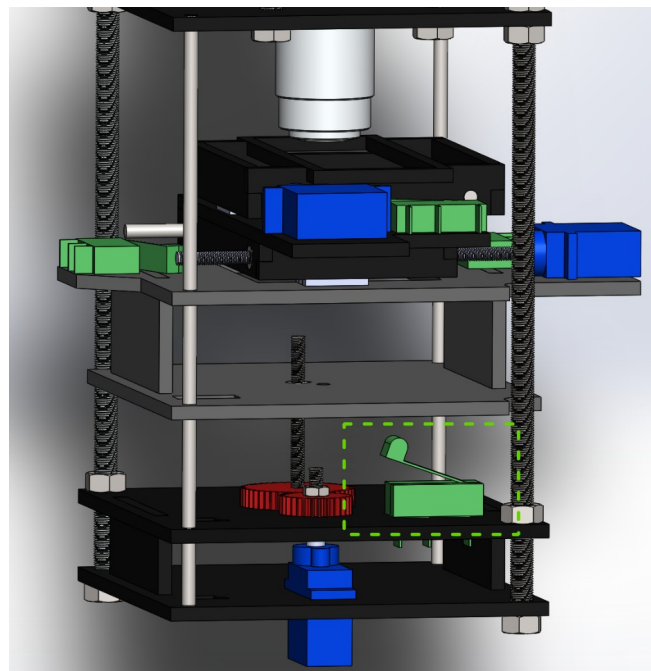


Figura 4.10. Modelat 3D del microscopi, sensor posició eix Z.

El sensor s'activa quan el carro es trasllada cap a baix en la direcció Z, ja que la part inferior del carro hi entra en contacte. Quan el carro està al final del recorregut, l'intercanvi de mostres és més còmode. Aquest sensor s'ha fixat amb un suport a l'estructura del microscopi.

Tots els sensors de posició implementats permeten conèixer la posició inicial del carro i alhora funcionen com a sistema de seguretat per protegir els components del microscopi, ja que no permeten que el carro es desplaci més enllà dels límits físics de l'estructura.

4.3. Implementació sensor d'apropament

4.3.1. Funcionament i connexió del sensor d'apropament

El sensor escollit per apropar la mostra a l'objectiu és el sensor fotoelèctric de barrera. El funcionament d'aquest tipus de sensor consisteix en un emissor que emet un feix de llum infraroja o visible i un receptor el detecta. Quan el feix de llum entre emissor i receptor es bloqueja amb un objecte, el sensor en detecta la presència i s'activa(24). A continuació es mostra un esquema del funcionament d'aquest tipus de sensors:

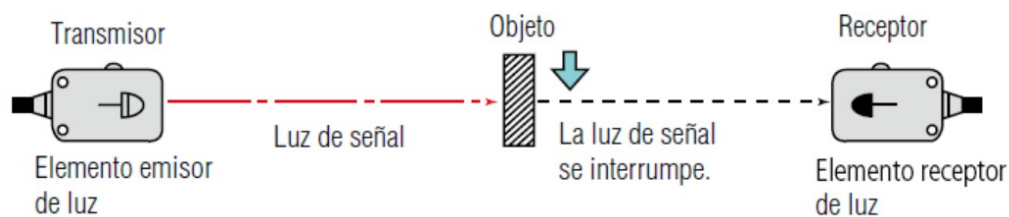


Figura 4.11. Funcionament sensor fotoelèctric de barrera ("¿Qué es un sensor fotoeléctrico?", Keyence)

En concret, el sensor que s'utilitzarà funciona amb llum infraroja. En la Figura 4.12 està indicat l'emissor "E" i el receptor "R". La línia vermella discontinua representa el feix de llum infraroja, la qual no és visible:

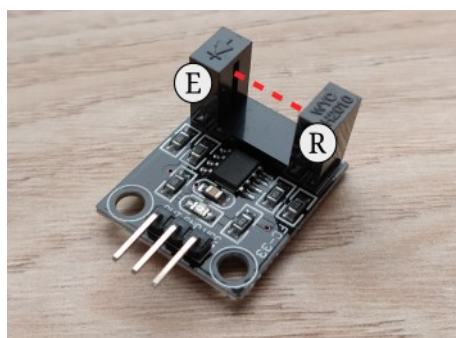


Figura 4.12. Sensor fotoelèctric utilitzat en el microscopi.

La connexió d'aquest sensor amb la placa Raspberry Pi és la següent:

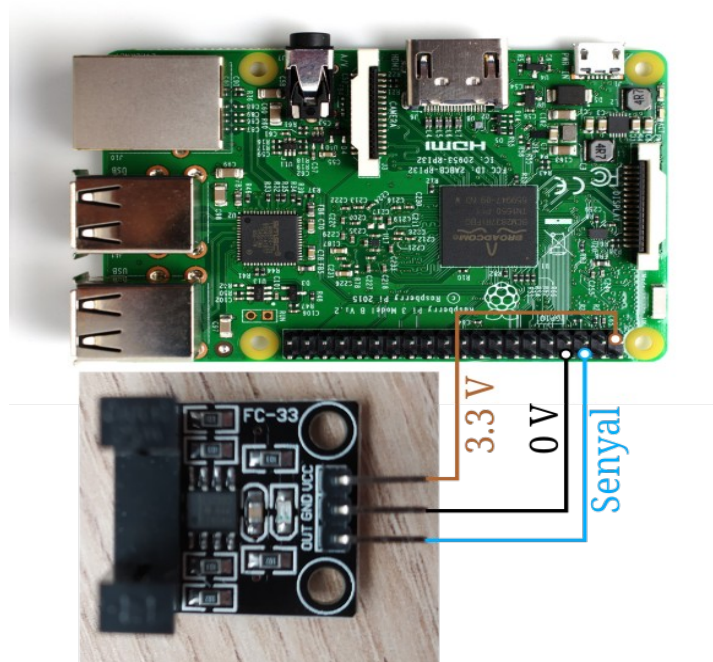


Figura 4.13. Esquema connexió sensor fotoelèctric.

El sensor fotoelèctric consumeix electricitat constantment per fer funcionar els seus components electrònics. Per alimentar el sensor, es connecta el contacte "VCC" al pin de 3,3 V i "GND" al pin de terra (0 V) de la placa Raspberry Pi. El contacte "OUT", el qual dóna el senyal a la Raspberry Pi, es connecta a un dels pins d'entrada digital. Si el sensor no detecta cap objecte, el "senyal" serà baix (0 V). Quan es talla el feix de llum, el sensor detecta l'objecte i el "senyal" d'entrada canvia a estat alt (3,3 V). D'aquesta manera la placa Raspberry Pi detecta quan un objecte ha interceptat el feix de llum entre l'emissor i el receptor del sensor fotoelèctric.

4.3.2. Ubicació del sensor d'apropament al microscopi

La funció del sensor fotoelèctric és apropar al màxim la mostra a l'objectiu. Secundàriament ajuda a impedir que el portaobjectes i l'objectiu entrin en excessiu contacte. Així doncs, aquest sensor ha de permetre conèixer la posició en la direcció Z del portaobjectes quan aquest estigui a prop de l'objectiu.

El principal inconvenient és que el portaobjectes es mou també en les direccions X i Y, és a dir, no es fàcil detectar de forma directa quan el portaobjectes està a prop de l'objectiu.

Per tant, en comptes de conèixer directament la posició Z del portaobjectes, es detectarà la posició de la base del carro. Com que la distància Z entre el portaobjectes i la base del carro és constant, aquesta es pot conèixer com la distància Z_1 de la Figura 4.14:

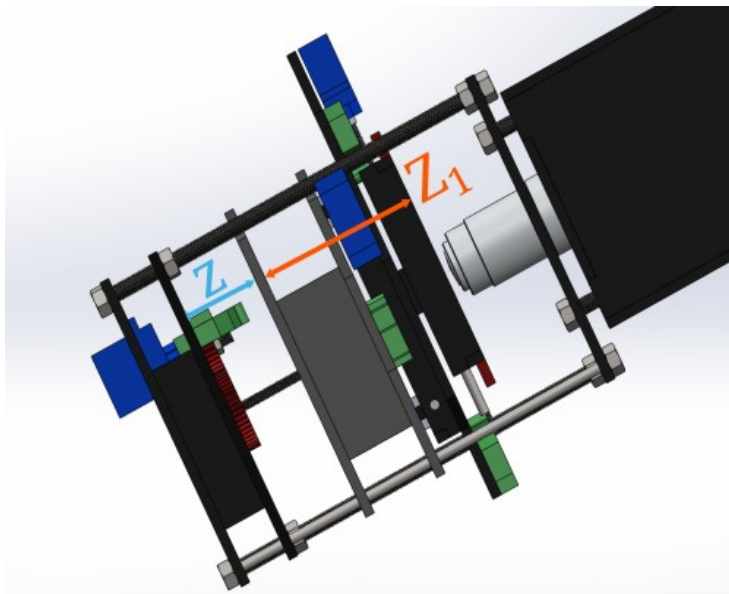


Figura 4.14. Detall de la distància entre la base del carro i el portaobjectes.

La suposició que la distància Z_1 és constant no es compleix a la perfecció en el prototip actual del microscopi. Això és degut al fet que el desplaçament horitzontal del carro mòbil no és molt fi i s'ha de millorar el sistema mecànic. Tot i això, en les futures iteracions del microscopi s'haurà de complir aquest requisit, ja que també és necessària la perpendicularitat entre l'eix de l'objectiu i el pla de la mostra per poder enfocar-la correctament.

D'acord amb la Figura 4.14, qualsevol punt de la base del carro mòbil sempre està a la mateixa distància Z_1 del portaobjectes, la qual és coneguda. La distància z (de color blau a la Figura 4.14) representa la posició variable del carro respecte a l'estructura fixa del microscopi.

Per fer l'aproximació de la mostra a l'objectiu, s'ha de conèixer la distància z que fa que la mostra estigui enfocada. Segons el disseny actual del microscopi, aquesta distància té un valor aproximat de 27 mm.

El sensor fotoelèctric ha de ser capaç de detectar si el carro mòbil està a aquesta distància $z = 27$ mm. D'aquesta manera, es podrà apropar al màxim la mostra a l'objectiu cada vegada que comenci el procés d'enfocament.

Per a que el sensor fotoelèctric detecti quan el carro mòbil està a aquesta distància z , s'ha pensat en el següent sistema.

El sensor fotoelèctric es fixa a la base del carro mòbil de tal manera que es traslladi en la direcció Z solidàriament amb el carro. D'altra banda, es col·loca una peça a l'estructura fixa del microscopi que actuarà com a guia. El sensor fotoelèctric es desplaçarà en l'eix Z , però la guia sempre estarà fixa i per tant hi haurà un moviment relatiu entre la guia i el sensor.

La guia bloquejarà el feix de llum del sensor fotoelèctric excepte quan el carro mòbil es troba a la distància $z = 27 \text{ mm}$, ja que a aquesta distància la guia té una ranura que permet el pas del feix de llum. En la Figura 4.15 es pot observar com funciona aquest sistema, on el sensor fotoelèctric apareix de color verd i la guia de color gris:

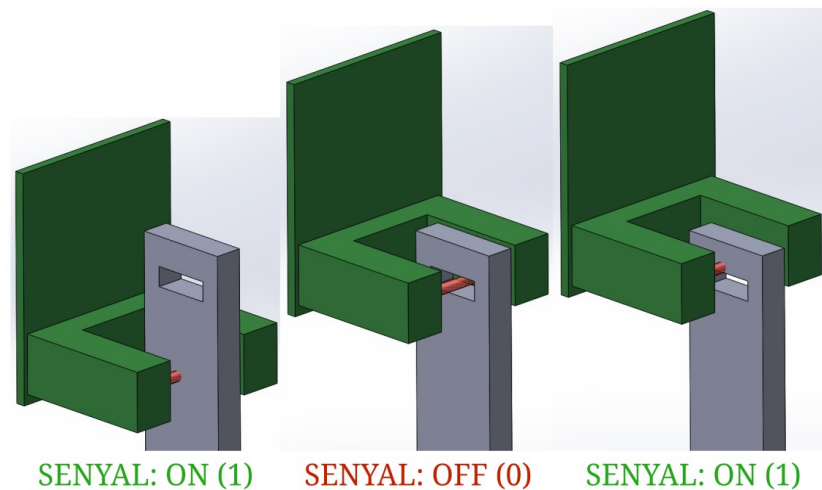


Figura 4.15. Sistema per detectar la posició Z del carro.

Si la guia es col·loca adequadament, el sensor fotoelèctric detectarà la posició del carro quan la mostra està gairebé enfocada. Aquest sistema també permet saber si el portaobjectes entra en contacte amb l'objectiu, com es pot observar en la tercera imatge de la Figura 4.15.

Aquest sistema aplicat al microscopi es mostra en la següent Figura 4.16, on es pot observar que el sensor fotoelèctric està fixat a sota de la base del carro mòbil:

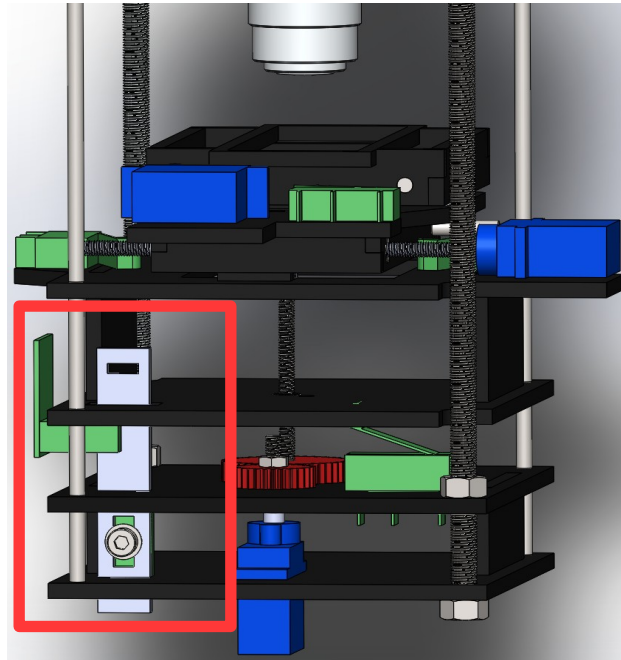


Figura 4.16. Ubicació del sensor fotoelèctric al microscopi (1/2)

En l'anterior figura es mostren el sensor i la guia quan el carro mòbil està allunyat de l'objectiu, és a dir, quan la mostra no està a prop de ser enfocada.

Per mostrar més adequadament aquest sistema, en la Figura 4.17 es mostra la ubicació del sensor fotoelèctric i la guia en el microscopi en detall:

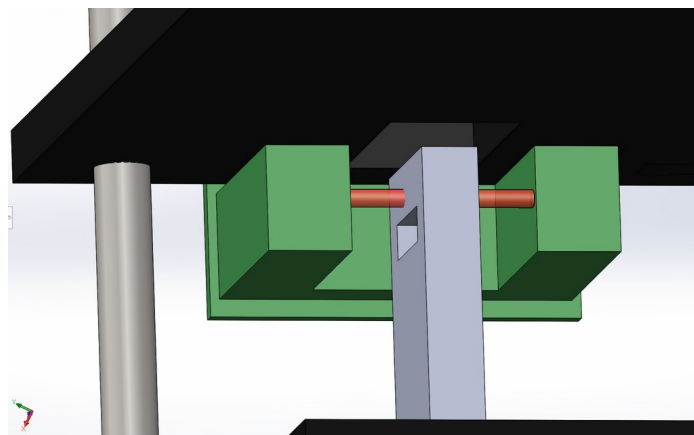


Figura 4.17. Detall del sensor fotoelèctric muntat al microscopi.

En la següent Figura 4.18 es mostra el mateix sistema però quan el sensor fotoelèctric detecta que el carro mòbil està a la distància $z = 27 \text{ mm}$, és a dir, quan la mostra molt a prop del punt d'enfocament:

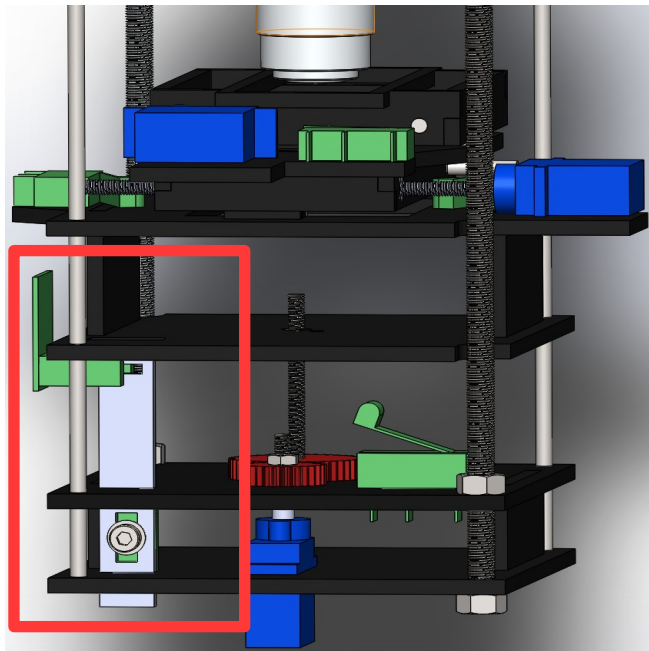


Figura 4.18. Ubicació del sensor fotoelèctric al microscopi (2/2)

Es vol aclarir que el sensor fotoelèctric no serveix directament per enfocar la mostra, sinó per aproximar-la a l'objectiu i així accelerar el procés d'enfocament. Per tant, la guia del sensor d'aproximació s'ha d'ajustar de tal manera que la mostra s'aproximi el màxim a l'objectiu sense passar-se del punt d'enfocament.

La guia està fixada a l'estructura inferior del microscopi mitjançant un peça de suport amb una femella i un cargol:

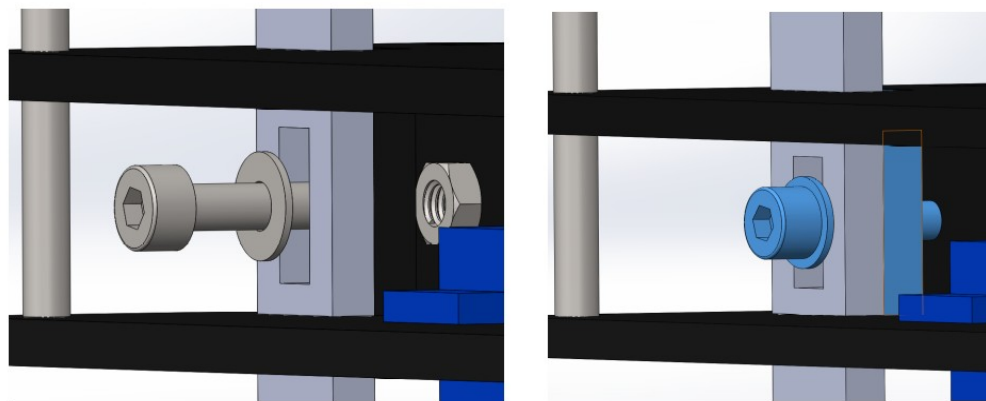


Figura 4.19. Detall de la unió de la guia amb el suport.

Amb aquest sistema el microscopi és capaç d'apropar al màxim el portaobjectes a l'objectiu. La guia té un marge de col·locació en el punt on està fixat al microscopi, de tal manera que es pugui ajustar amb més precisió. La ranura de la guia té una distància Z d'un mil·límetre perquè el microscopi enfocar la mostra dins aquest marge.

4.4. Disseny final del nou prototip

Per dur a terme la implementació dels sensors s'han modificat les següents peces de l'anterior disseny del microscopi:

- Placa motor Z [1]
- Placa Engranatges [2]
- Placa inferior carro mòbil [3]
- Placa Moviment X [4]
- Placa Moviment Y [5]
- Placa superior [6]

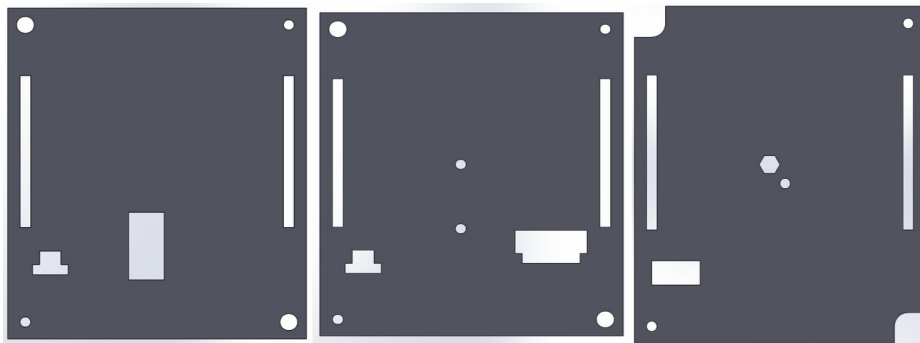


Figura 4.20. Peces modificades [1], [2] i [3].

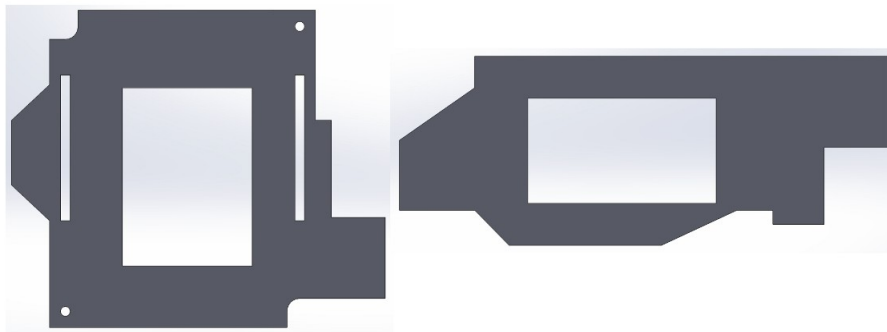


Figura 4.21. Peces modificades [4] i [5].

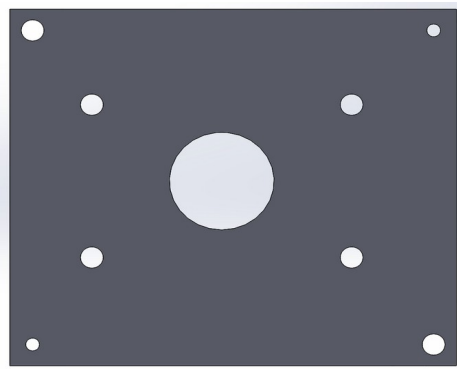


Figura 4.22. Peça modificada [6].

A les peces 1, 2, 3, 4 i 6 s'han modificat les ubicacions dels forats per on passen les guies d'alumini del carro i les varetes roscades que subjecten l'estructura del microscopi, de tal manera que s'han posat més a l'extrem. Amb això s'ha aconseguit que el carro es pugui moure fins a 15 mm en cada direcció X i Y, com ja s'ha mencionat anteriorment.

També s'han afegit les següents peces:

- Suport sensor final de carrera Z [7]
- Suport guia sensor fotoelèctric [8]
- Guia sensor fotoelèctric [9]

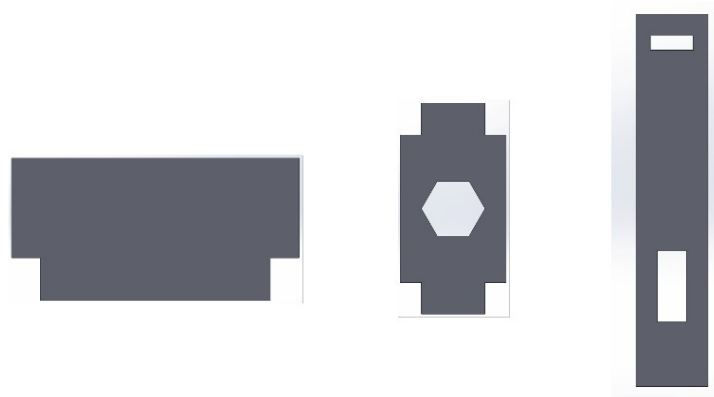


Figura 4.23. Peces noves [7], [8] i [9].

Els dos suports anteriors s'enganxaran a la resta de components de l'estructura amb una cola apte per plàstic rígids. En aquest projecte s'ha utilitzat "Ceys: especial plásticos rígidos", ja que s'ha fet servir per unir tots els components del prototip anterior del microscopi. Tant els

sensors de final de carrera com el sensor fotoelèctric, aniran enganxats al microscopi amb la mateixa cola amb la qual s'enganxen la resta de components de metacrilat.

Per subjectar la guia del sensor fotoelèctric al suport s'han afegit els següents elements:

- Femella roscada M3
- Cargol Allen M3
- Volandera M3

A part de les peces de metacrilat, s'han fet les següents modificacions per millorar el moviment de les bases de moviment X i Y:

- S'ha allargat la vareta roscada i la guia d'alumini del motor de l'eix X de 65 mm a 75 mm.
- S'ha allargat la vareta roscada i la guia d'alumini del motor de l'eix Y de 80 mm a 100 mm.

A continuació es mostra el nou disseny del prototip del microscopi AIScope:

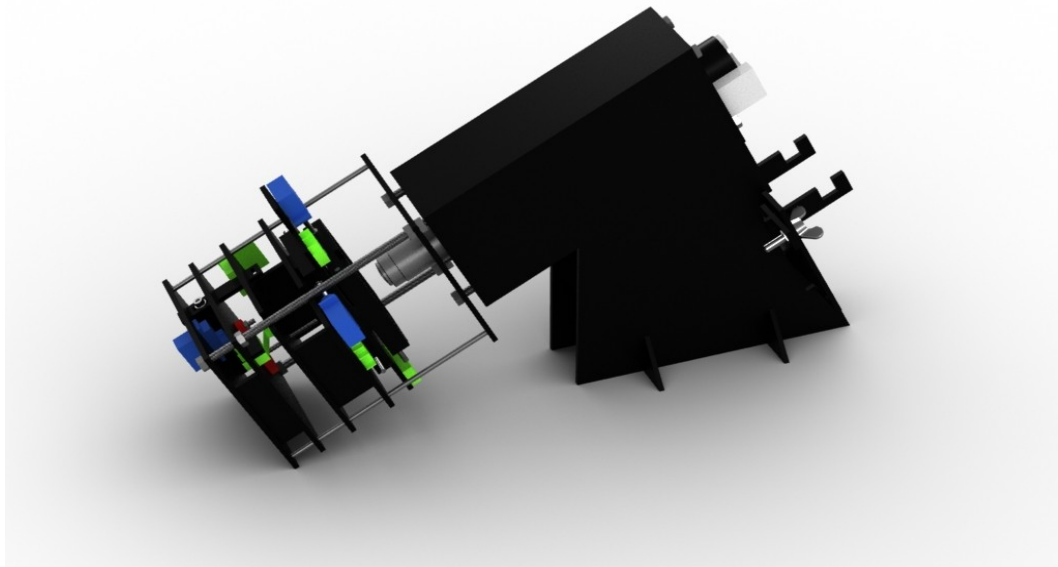


Figura 4.24. Vista general 1 microscopi AIScope.

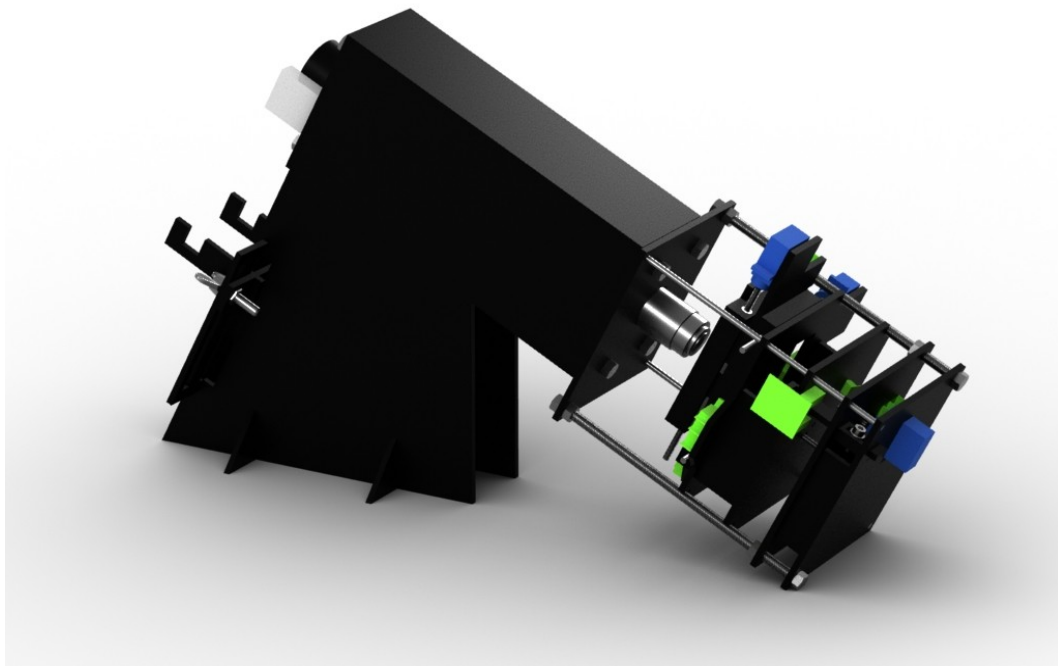


Figura 4.25. Vista general 2 microscopi AIScope.

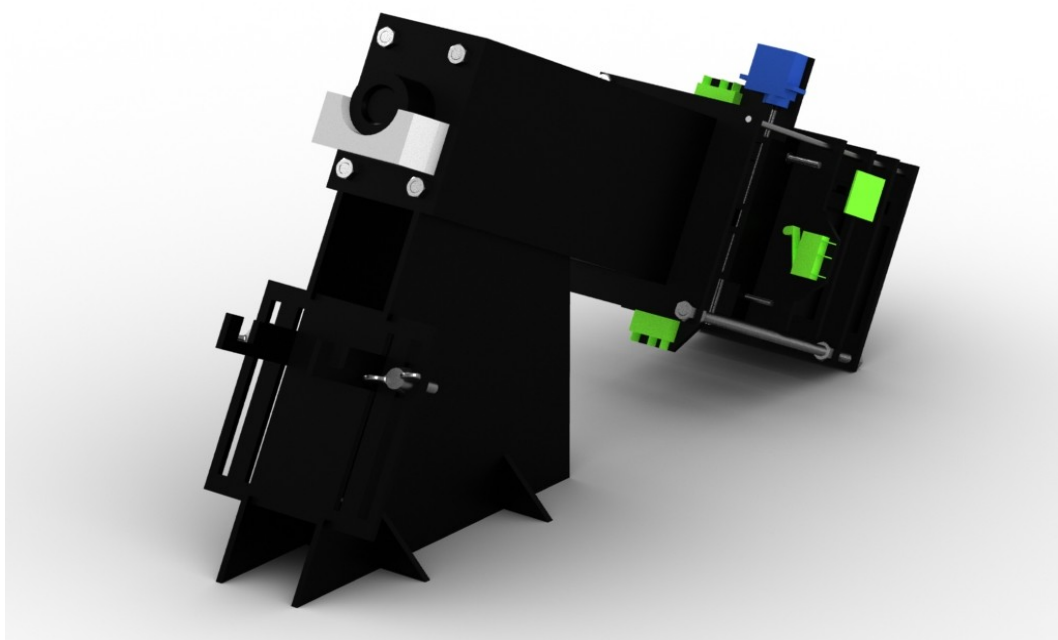


Figura 4.26. Vista general 3 microscopi AIScope.

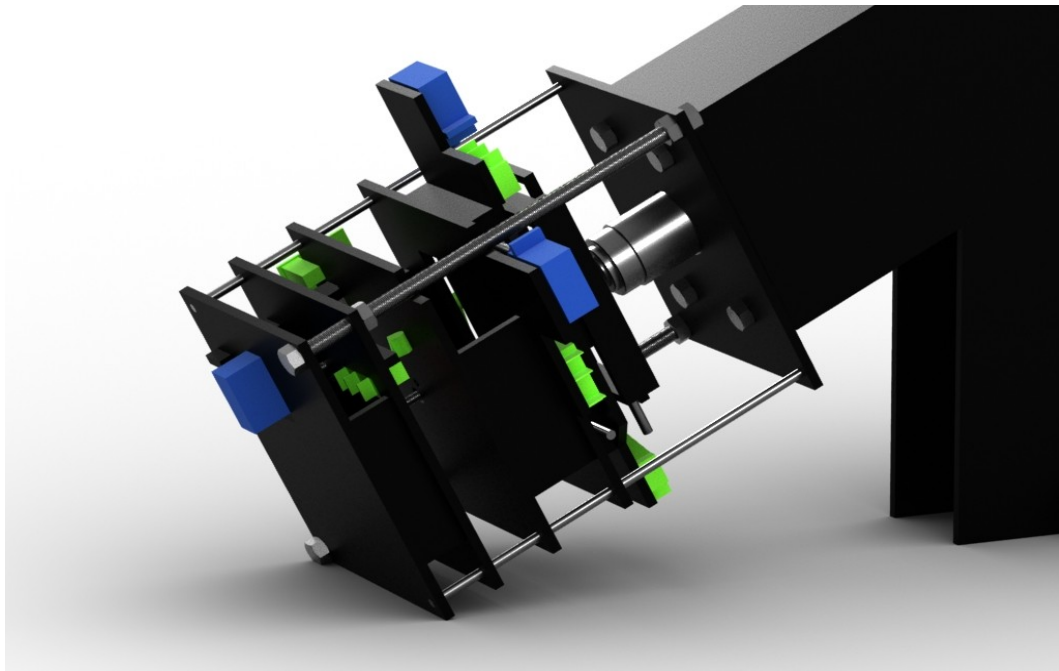


Figura 4.27. Vista carro mòbil microscopi AIScope.

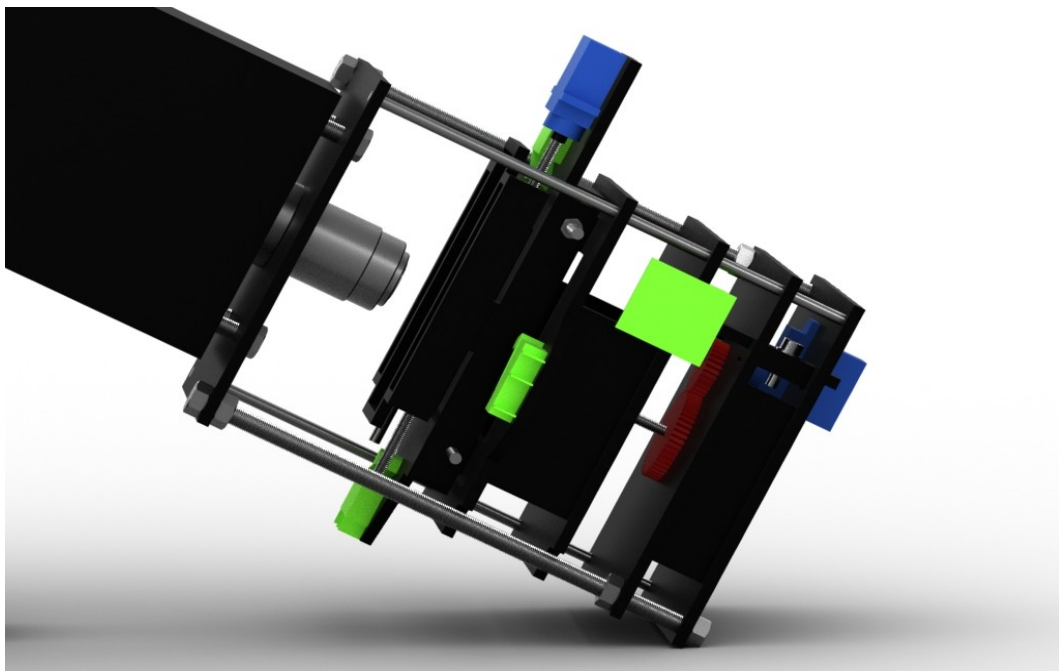


Figura 4.28. Vista detall sensors 1 microscopi AIScope.

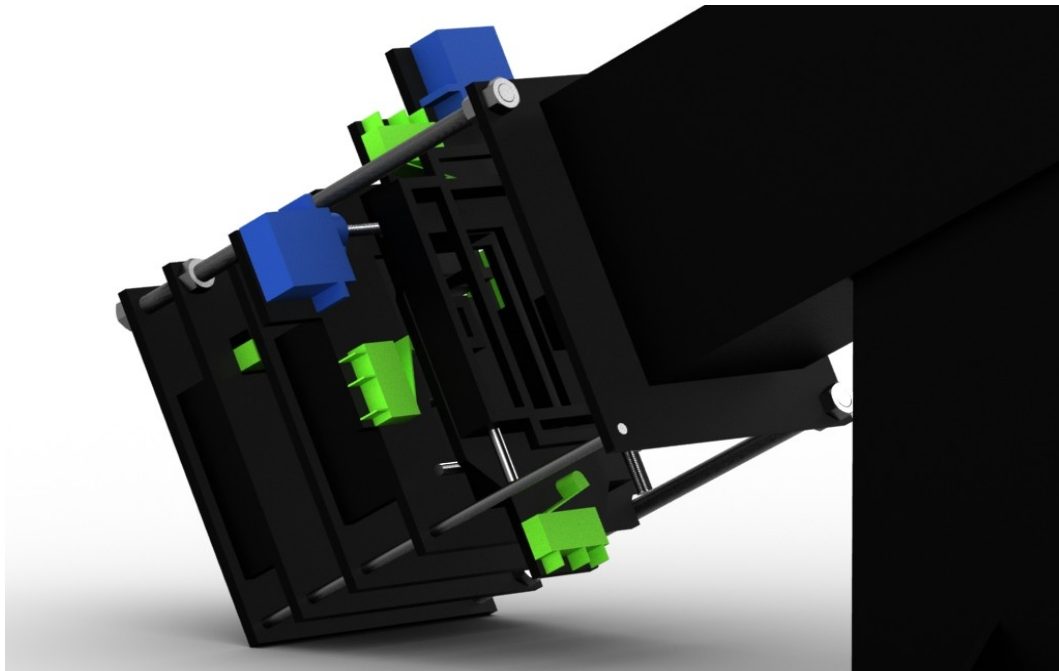


Figura 4.29. Vista detall sensors 2 microscopi AIScope.

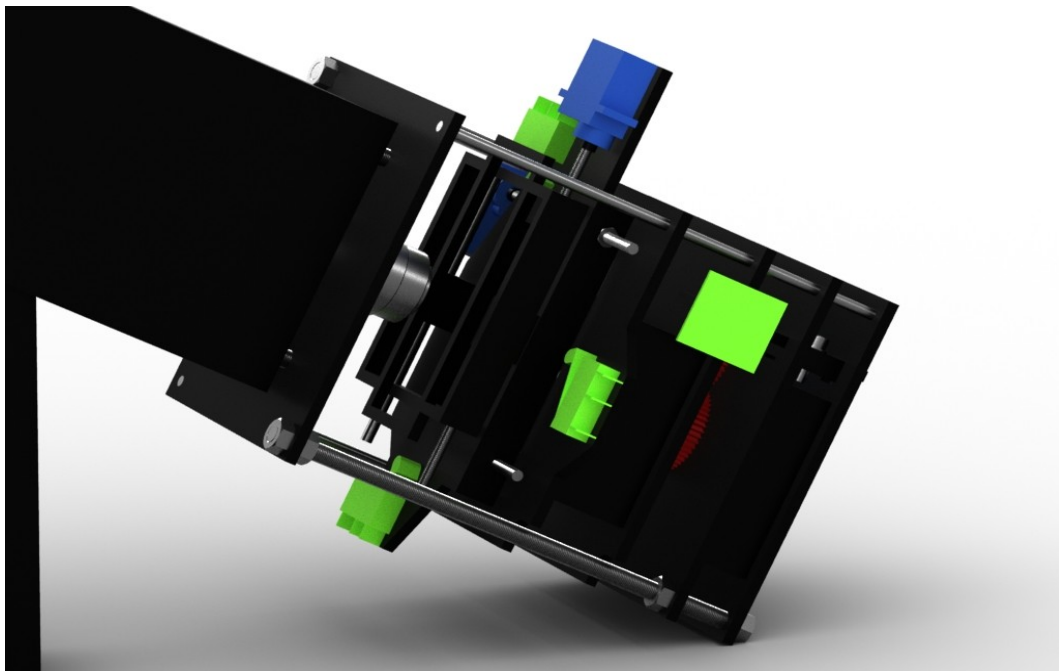


Figura 4.30. Vista detall sensors 3 microscopi AIScope.

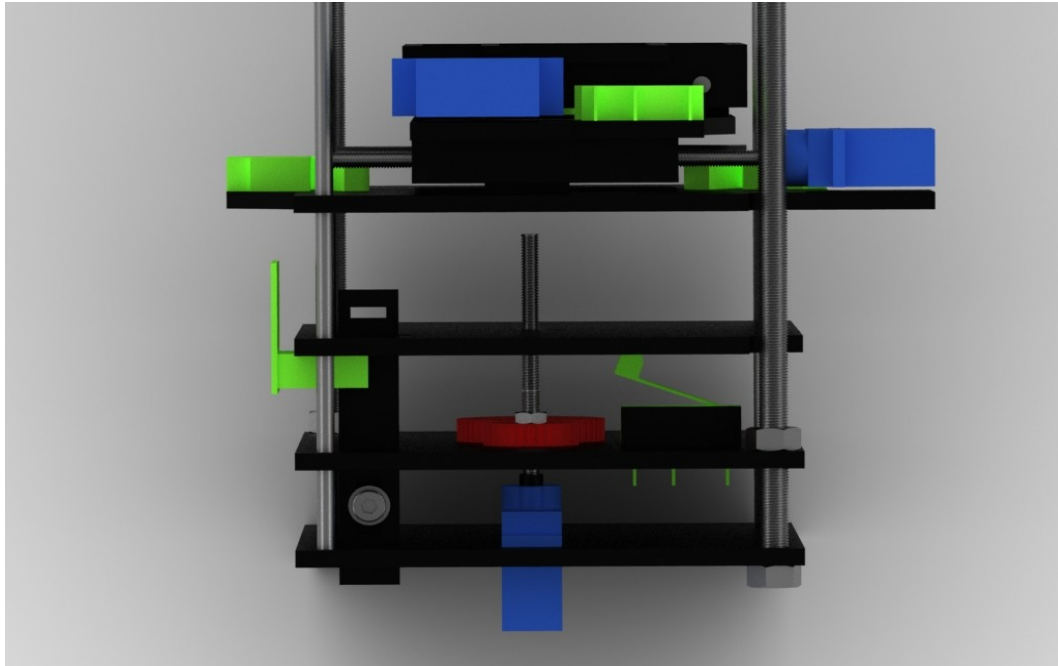


Figura 4.31. Vista detall sensors 4 microscopi AIScope.

El nou plànol per fer el tall làser de les peces de metacrilat de l'estructura té unes dimensions de 510 x 430 mm, el qual es mostra en la següent figura:

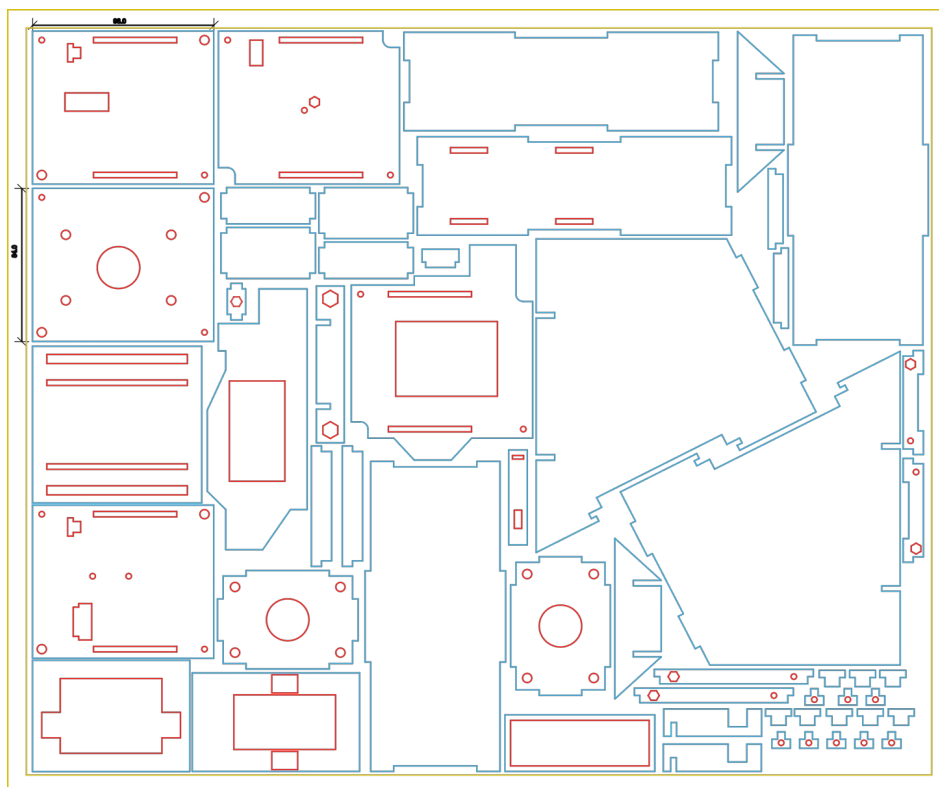


Figura 4.32. Nou plànol del tall làser incloent les noves peces pel microscopi.

4.5. Procés automàtic d'obtenció de fotografies

4.5.1. Diagrama del procés

En els següents apartats es desenvoluparà el programa pel nou prototip del microscopi, implementant l'ús dels sensors i altres millores per reduir el temps total del procés. El codi en Python del programa complet es recull a l'Annex A. Per desenvolupar el programa s'ha consultat la bibliografia (47) – (56),

El diagrama de flux que defineix el procés automàtic d'obtenció de fotografies de la mostra és el següent:

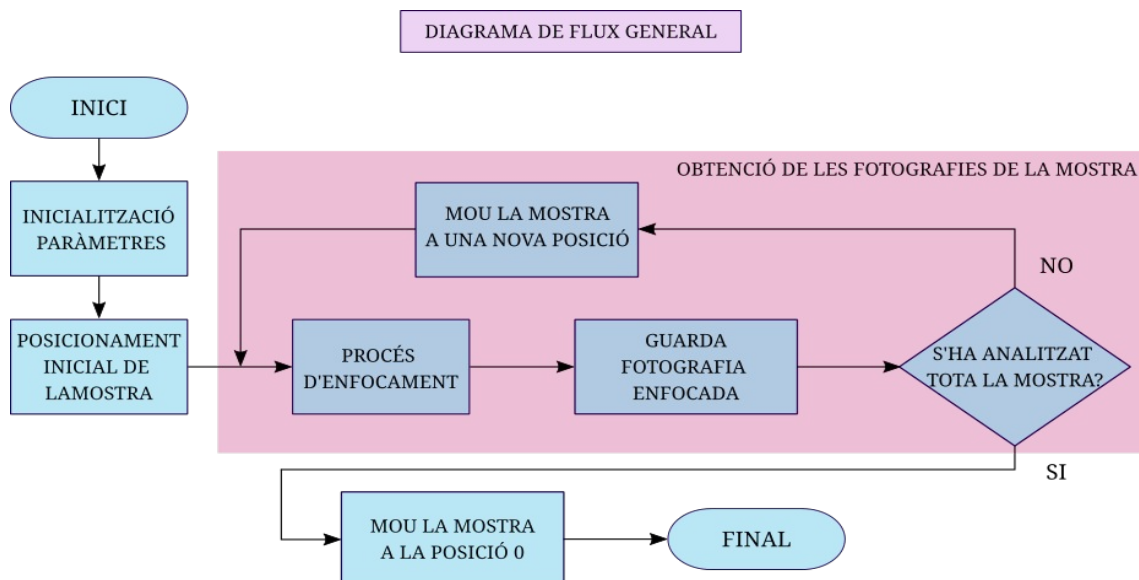


Figura 4.33. Diagrama de flux del procés automàtic del microscopi.

Tots els subprocessos del diagrama de flux es desenvoluparan en els següents apartats. Es destaca que el "Procés d'enfocament" tindrà un diagrama de flux propi (veure Figura 4.42) per la seva importància en el nou prototip.

4.5.2. Inicialització i posicionament de la mostra

En la fase d'inicialització es definiran els pins d'entrada i sortida de la Raspberry Pi que s'utilitzaran per als sensors, els servomotors i el LED que il·lumina la mostra. També s'inicialitzaran altres paràmetres necessaris com la configuració inicial de la càmera. La programació en Python de la fase d'inicialització es pot trobar a la pàgina 3 de l'Annex A.

En la fase de posicionament inicial de la mostra, es realitzaran en ordre els següents subprocessos:

- Posicionament del carro a la posició 0 (posició de partida de tot el procés).
- Centrat de la mostra respecte a l'objectiu.
- Apropament de la mostra a l'objectiu.

Aquests subprocessos s'han programat com a funcions del programa, les quals s'expliquen a continuació.

■ Funció "posició 0"

Paràmetres d'entrada: Cap.

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Mou la mostra fins a la posició 0 del microscopi. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 9 de l'Annex A.

Aquesta funció mou el carro fins la posició (X_0, Y_0, Z_0) , que correspon al punt de partida de tot el procés de presa de fotografies. Per trobar aquest punt de partida, es mourà el carro fins a arribar als límits en cada direcció X, Y i Z, els quals es detecten amb els sensors de final de carrera X^- , Y^- i Z^- indicats a la Figura 4.34 (veure pàgina següent).

La funció acaba quan els tres sensors detecten la presència del carro mòbil.

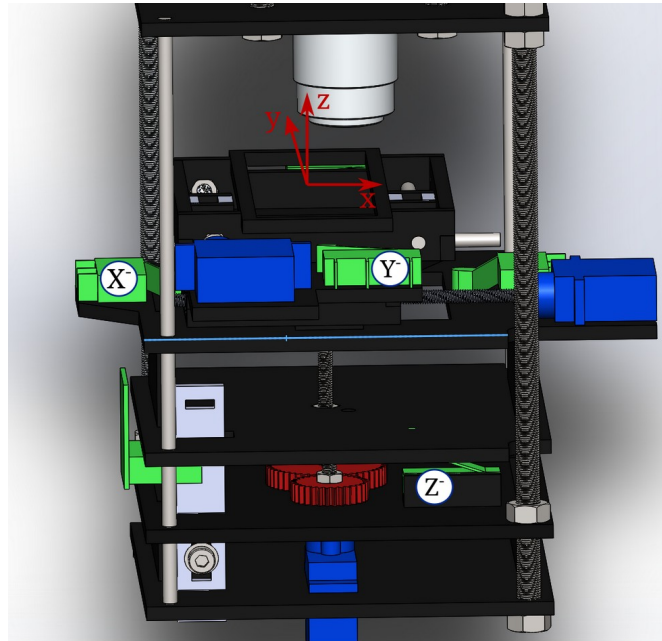


Figura 4.34. Posició del punt de partida del microscopi.

■ Funció "Centrat mostra"

Paràmetres d'entrada: Temps de centrat X i Y.

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Centra la mostra en els eixos X i Y respecte a l'objectiu. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 10 de l'Annex A.

Per centrar la mostra en X i Y respecte a l'objectiu, es trasllada el carro fent girar els servomotors durant uns temps determinats. Aquests temps són els paràmetres d'entrada de la funció. Empíricament s'ha determinat que els servomotors X i Y han de girar durant 8 segons.

■ Funció "Apropament mostra a l'objectiu"

Paràmetres d'entrada: Temps de retard ("delay")

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Apropa la mostra gairebé fins a tocar amb l'objectiu, just abans del punt d'enfocament. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 10 de l'Annex A

Aquesta funció aproparà la mostra a l'objectiu fins que el sensor fotoelèctric detecti que el carro està a la posició Z inicial (mostra gairebé enfocada). El temps de retard o "delay", el qual

és un paràmetre d'entrada de la funció, permet que el servomotor es pari amb retard després que s'activi el sensor fotoelèctric, de tal manera que es pugui aproximar encara més la mostra a l'objectiu.

La posició Z inicial es defineix com la posició d'inici del procés d'enfocament (X_i, Y_i, Z_i), la qual es mostra en la Figura 4.35:

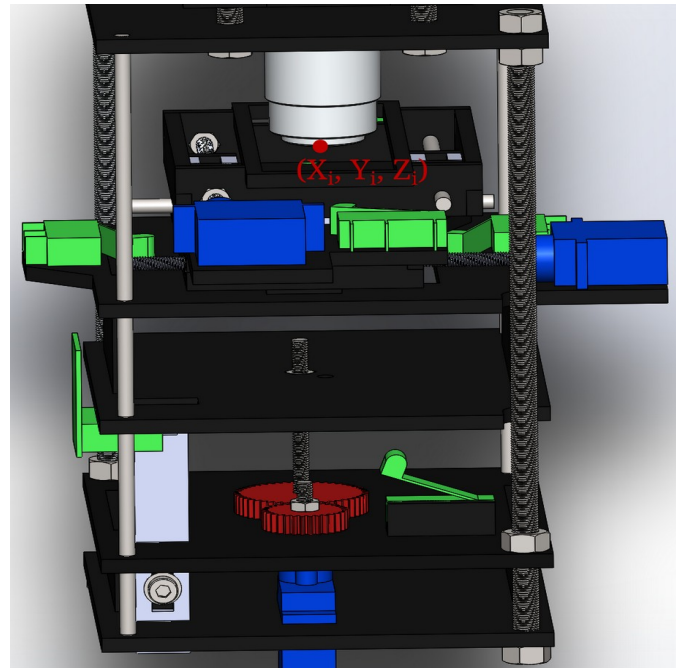


Figura 4.35. Posició d'inici del procés d'enfocament.

La posició (X_i, Y_i) canviarà per cada nova fotografia de la mostra, però la posició Z_i sempre serà la mateixa a l'inici del procés d'enfocament.

4.5.3. Algorisme d'enfocament i presa de les fotografies

A cada iteració del procés d'enfocament es pren una fotografia i s'analitza després amb l'algorisme d'enfocament. Els temps d'aquestes dues tasques són els més llargs dins el procés d'enfocament actual, sobretot el temps de realitzar la fotografia i emmagatzemar-la (veure la Taula 2.4 de l'apartat 2.4.3. *Operacions crítiques del programa actual*).

Amb l'objectiu de reduir el temps d'anàlisi de la fotografia i mantenint-ne la precisió, s'ha procedit a millorar el procés amb les següents accions:

- Presa de la fotografia a una resolució adient.
- Retall de la fotografia per analitzar-la.

- Processament de la fotografia a blanc i negre.
- Emmagatzemar temporalment la fotografia dins el programa.

Amb el nou mètode, el temps per prendre la fotografia serà inferior perquè no s'emmagatzema la fotografia a la memòria de la Raspberry Pi com en la versió anterior del microscopi, sinó que es guarda com una variable dins el programa. La resolució en la qual es prendran les fotografies serà de 1280x976 píxels perquè les fotografies tindran bona qualitat i són ràpides de processar. Tot i no ser la resolució més baixa a la que es pot treballar, és la més equilibrada tant per fer l'enfocament com per la fotografia final de la mostra enfocada.

La velocitat per prendre la fotografia no es veu afectada pels paràmetres de la càmera (com el balanç de blancs, la sensibilitat ISO, etc.). Aquests paràmetres es deixaran en mode automàtic, ja que fixar-los no fa millorar la rapidesa per prendre fotografies.

Per a facilitar el processament de les imatges, durant l'enfocament s'analitzarà només una àrea de la fotografia sencera. Per a enfocar la mostra només cal enfocar una zona de la fotografia. En retallar la fotografia es redueix el temps de càlcul de l'algoritme perquè es processa una quantitat inferior de píxels:

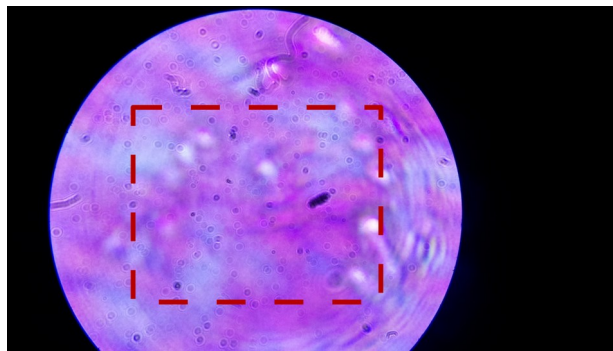


Figura 4.36. Proposta de retall de la fotografia obtinguda amb el microscopi.

S'ha de tenir en compte que si es retalla la fotografia en excés, el programa d'enfocament podria encallar-se intentant enfocar una zona de la fotografia on hi ha pocs elements. Per tant, el retall que es farà a les fotografies serà semblant al de la Figura 4.36, el qual redueix a una quarta part la quantitat de píxels.

Per portar a terme totes les millores anteriors, s'han definit les següents funcions:

- Algoritme d'enfocament.

- Presa de la fotografia.
- Límits de retall de la fotografia.

■ Funció "Algoritme d'enfocament"

Paràmetres d'entrada: Fotografia.

Paràmetres de sortida: Valor d'enfocament de la fotografia d'entrada.

Descripció: Calcula el valor d'enfocament d'una fotografia, utilitzant l'algoritme "Sobel Derivatives". La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 4 de l'Annex A .

La programació de l'algoritme d'enfocament «Sobel Derivatives» va ser realitzada per l'Ariadna Fernández en el seu TFE, però s'ha modificat lleugerament per adaptar-lo al nou procés. La funció calcula el valor d'enfocament a partir d'una fotografia d'entrada i retorna aquest valor per a ser utilitzat en el mètode d'enfocament. La fotografia d'entrada ha de ser en blanc i negre, pot ser retallada o no.

■ Funció "Presa de la fotografia"

Paràmetres d'entrada: Cap.

Paràmetres de sortida: Fotografia de la mostra.

Descripció: Realitza una fotografia de la mostra. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 5 de l'Annex A.

La funció pren la fotografia amb la càmera, la guarda en una variable interna del programa i la retorna per a ser utilitzada en el mètode d'enfocament.

El canvi de la fotografia a blanc i negre i el retall es realitzarà a posteriori, dins la funció "Mètode d'enfocament".

■ Funció "Límits de retall de la fotografia"

Paràmetres d'entrada: Fotografia.

Paràmetres de sortida: Llista amb els valors de retall per les fotografies.

Descripció: Calcula les mides del retall que es farà en les fotografies per enfocar la mostra. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 7 de l'Annex A .

La funció calcula els límits de l'àrea de retall que s'utilitzarà en el mètode d'enfocament, els quals es mostren a la següent figura:

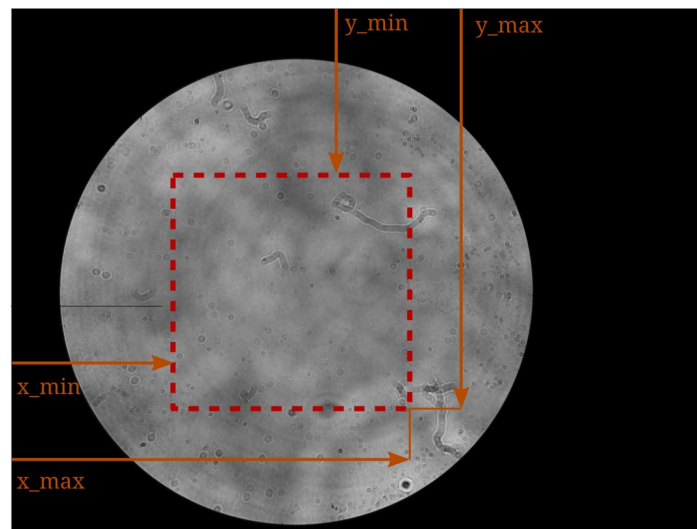


Figura 4.37. Valors dels límits per fer el retall.

Els valors "x_min", "x_max", "y_min" i "y_max" de la Figura 4.37 són els límits per fer el retall a les fotografies que s'analitzaran posteriorment amb l'algoritme d'enfocament. Per retallar una fotografia només cal indicar-ne els valors anteriors.

La funció realitzarà les següents operacions per trobar els valors de retall:

- Passar a blanc i negre la fotografia (paràmetre d'entrada).
- Determinació d'una capsa al voltant de la mostra, és a dir, on la fotografia no és negra.
- Determinació d'una nova capsa amb la meitat d'amplada i alçada que l'anterior capsa.
- Retorn dels valors de retalls en funció de la fotografia retallada.

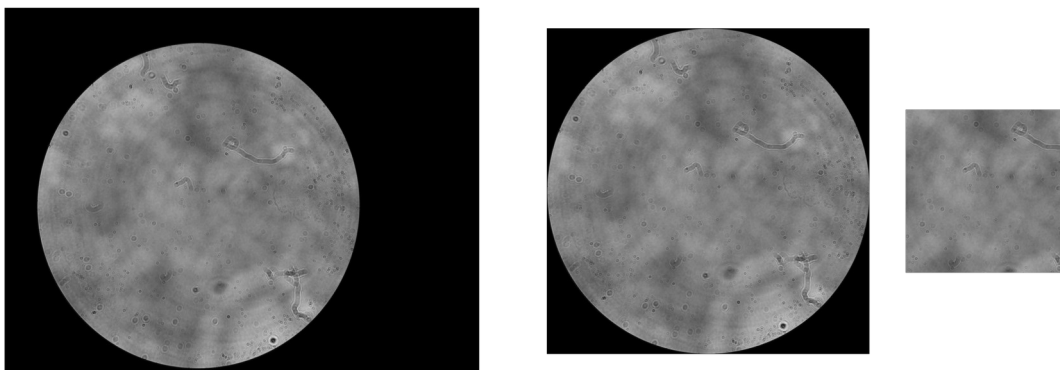


Figura 4.38. Successió dels passos per retallar la fotografia.

Aquesta funció només s'utilitzarà una vegada a l'inici del programa, abans de començar a enfocar qualsevol part de la mostra. Els valors de retall seran utilitzats pel "mètode d'enfocament" durant tot el procés automàtic d'obtenció d'imatges.

4.5.4. Escombrat de la mostra

En aquest apartat es mostrarà la forma per fer fotografies de tota la mostra. Es necessita fer els mínims moviments possibles entre una posició i una altra, per així reduir el temps.

Per començar l'escombrat de la mostra, se centrarà respecte de la posició inicial (X_0, Y_0). Des del centre de la mostra, se seguirà un recorregut en espiral per poder fotografiar la mostra amb els mínims moviments possibles (un moviment per iteració). L'esquema del recorregut es mostra en la següent pàgina, a la Figura 4.39.

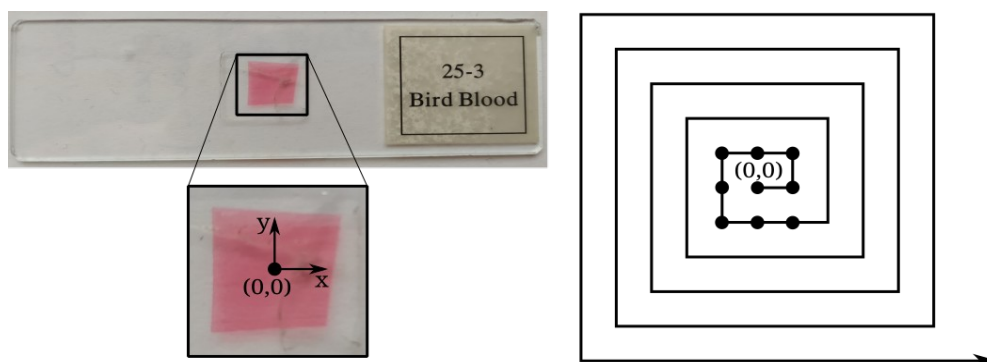


Figura 4.39. Exemple del recorregut plantejat per fer l'escombrat de la mostra.

En la figura anterior, l'esquema de la dreta representa el recorregut que farà el carro mòbil per fotografiar els diferents punts de la mostra (s'hi han marcat les nou primeres posicions). A cada nova posició es fa un moviment en la direcció X o Y.

S'ha optat per aquest sistema perquè permet, sense conèixer la forma de la mostra, fer el màxim de fotografies.

Per dur a terme la programació d'aquesta part, es definirà una funció que generarà la llista de moviments per fer el recorregut de la Figura 4.39. Es crearà una segona funció que a partir dels valors de la llista mourà el carro mòbil en la direcció indicada:

- Generació llista moviments.
- Moviment mostra.

■ Funció "Generació llista moviments"

Paràmetres d'entrada: Amplada i alçada de la mostra en mil·límetres.

Paràmetres de sortida: Llista seqüencial dels moviments X i Y de la mostra.

Descripció: Genera una llista de moviments per indicar el recorregut de l'escombrat de la mostra. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 8 de l'Annex A .

La funció genera una llista de números a partir de les dimensions de la mostra (paràmetre d'entrada). A partir d'una mostra de forma quadrada, s'obté la següent llista de moviments:

$[0, 1, 2, 2, 3, 3, 0, 0, 0, 1, 1, 1, 2, 2, 2, 2, \dots]$

Cada nombre representa un tipus de moviment del carro mòbil en el pla XY:

- El "0" representa el moviment → o X+
- El "1" representa el moviment ↑ o Y+
- El "3" representa el moviment ← o X-
- El "4" representa el moviment ↓ o Y-.

La funció retorna aquesta llista de moviments al programa principal. Cada vegada que s'hagi de moure la mostra a una nova posició, es llegirà una nou valor d'aquesta llista de moviments. A continuació, es passarà el valor del moviment a la funció "Moviment mostra", la qual efectuarà el moviment corresponent.

La funció "Generació llista moviments" s'utilitzarà a l'inici del programa, abans de començar a enfocar qualsevol part de la mostra.

■ Funció "Moviment mostra"

Paràmetres d'entrada: Nombre del moviment.

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Mou el carro mòbil en el pla XY, segons el moviment indicat en el paràmetre d'entrada. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 11 de l'Annex A .

4.5.5. Mètode d'enfocament

El mètode d'enfocament és el programa que enfocarà la mostra i emmagatzemarà la fotografia enfocada a la memòria de la Raspberry Pi. Les funcions descrites en l'apartat anterior 4.5.3. *Algoritme d'enfocament i presa de les fotografies*, s'utilitzaran durant procés d'enfocament.

Com ja s'ha mencionat en anteriors apartats, l'objectiu del mètode d'enfocament és enfocar la mostra a partir de l'algoritme "Sobel Derivatives", el qual dona un valor d'enfocament per cada fotografia. Els valors d'enfocament, a mesura que s'apropa la mostra a l'objectiu, formen una funció com la següent:

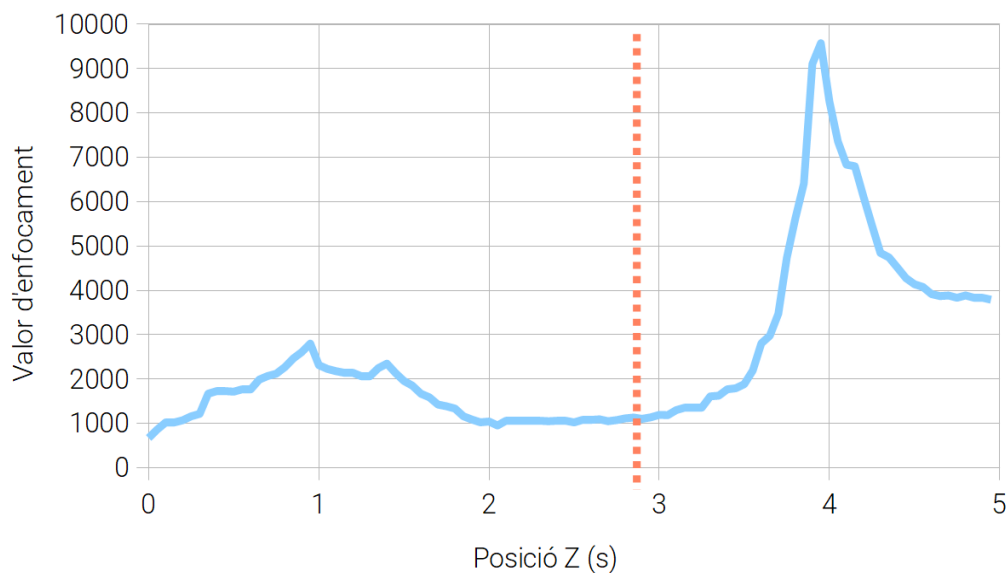


Figura 4.40. Posició d'inici del procés d'enfocament.

Utilitzant la funció "**Apropament mostra a l'objectiu**" descrita a l'apartat 4.5.2. *Inicialització i posicionament de la mostra*, la mostra s'aproxima a l'objectiu fins al punt que marca la línia taronja de la Figura 4.40. A partir d'aquest punt, la corba d'enfocament és creixent fins al màxim, on la fotografia estarà més ben enfocada. El procés d'enfocament sempre començarà a partir d'aquest punt.

La mostra es pot enfocar en menys temps perquè es comença a enfocar a poca distància del punt d'enfocament. Un altre avantatge és que s'eviten els pics que no són els valors màxims de la funció d'enfocament (màxims locals), fent que el procés sigui més fiable per trobar el punt d'enfocament real (màxim de la funció).

El programa de la versió anterior del microscopi no enfocava correctament per diversos motius:

- El gir dels servomotors no és constant perquè el carro mòbil no té un desplaçament precís a causa dels elements mecànics.
- Cada part de la mostra té una funció d'enfocament diferent. Els valors d'enfocament vénen determinats per la il·luminació de la mostra, la mateixa mostra, etc. No es pot agafar un valor d'enfocament de referència, ja que una part de la mostra pot sortir desenfocada i una altra no arribarà mai a enfocar-se. És a dir, cada part de la mostra té un valor màxim d'enfocament diferent.
- La funció d'enfocament és irregular. No és sempre creixent fins al punt d'enfocament ni sempre decreixent passat aquest punt. Per tant, si el valor d'enfocament baixa entre la fotografia anterior i l'actual, no significa que ja s'hagi passat pel màxim de la funció.

Per solucionar aquests problemes, s'ha dissenyat el nou mètode d'enfocament tenint en compte els següents punts:

- Per saber si la mostra està enfocada, no es pot basar en un valor mínim d'enfocament.
- S'ha d'evitar oscil·lar al voltant del punt d'enfocament, ja que la funció és irregular i és difícil saber si una fotografia està abans o després del punt d'enfocament.
- Guardar les fotografies temporalment, de tal manera que si s'ha trobat el punt d'enfocament, la imatge es conservi. Així s'evita fer desplaçaments dels servomotors per tornar a buscar el punt d'enfocament.
- Utilitzar diferents velocitats pels servomotors, de tal manera que s'optimitzin els moviments i es redueixin les iteracions per enfocar la mostra.
- Mètode ràpid i fiable.

Per desenvolupar el nou mètode d'enfocament, s'ha de millorar la forma d'aproximar-se al punt d'enfocament i saber quan la fotografia ha estat enfocada, amb un mètode iteratiu. L'aproximació de la mostra fins al punt d'enfocament ha de ser eficient, així es requeriran menys iteracions per enfocar i per tant el temps d'enfocament serà menor.

Si a cada aproximació el carro mòbil es mou grans distàncies, no hi haurà gaire precisió per enfocar i hi ha el risc que es passi de llarg el punt d'enfocament. Si les aproximacions són petites, el temps per arribar fins al punt d'enfocament serà massa llarg.

Així doncs s'aproximarà la mostra ràpidament a l'inici i a mesura que el punt d'enfocament estigui més a prop, s'anirà reduint la velocitat de les aproximacions. A cada iteració la mostra s'aproparà a l'objectiu, de tal manera que es pugui assegurar que s'ha passat pel punt d'enfocament en algun moment del procés.

El mètode d'enfocament es farà per "fases". El desplaçament a cada aproximació es reduirà cada vegada que es canviï de fase. L'objectiu és aproximar-se al punt d'enfocament ràpidament i enfocar amb precisió, per assegurar-se de passar pel punt d'enfocament màxim:

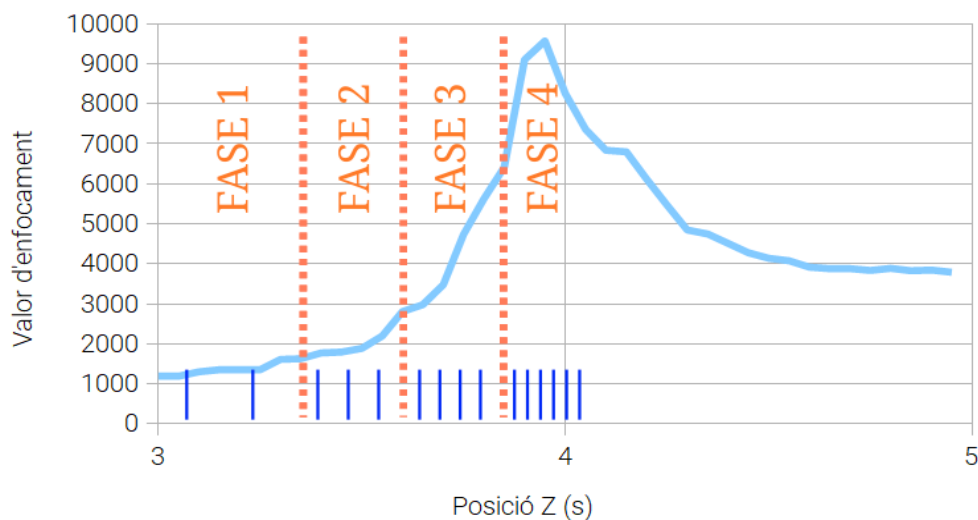


Figura 4.41. Funció d'enfocament amb les fases indicades.

Tal com s'observa en la Figura 4.41, es va canviant de fase quant la mostra està més a prop del punt d'enfocament. Les barres de color blau representen el punt de la funció on s'ha pres una fotografia, que a mesura que es canvia de fase la distància entre les fotografies és inferior. La precisió per enfocar augmenta com més petit sigui el desplaçament del carro en l'eix Z.

Per canviar d'una fase a la següent, s'analitzarà quant ha incrementat el valor d'enfocament (VE) en percentatge entre l'anterior fotografia i l'actual:

$$\text{Increment } VE(i) = \frac{VE(i) - VE(i-1)}{VE(i-1)} \cdot 100$$

On $VE(i)$ és el valor d'enfocament en la iteració actual (i). El resultat és un valor que representa el percentatge d'augment o disminució del valor d'enfocament entre la fotografia anterior i l'actual.

L'increment del valor d'enfocament és útil per saber si s'està aproximant la mostra al valor màxim d'enfocament de la funció, ja que les funcions d'enfocament de les diferents parts de la mostra tenen una forma semblant. Aquest fet es pot comprovar en la Figura 3.13 de l'apartat 3.2.4. *Algoritmes Derivatiu*.

A mesura que la mostra s'aproxima al punt d'enfocament, la pendent de la funció és més gran. Utilitzant el valor de l'increment com a guia, el mètode d'enfocament té la mateixa efectivitat per qualsevol mena de fotografia que estigui enfocant.

A cada iteració del procés d'enfocament, es guarda temporalment la nova fotografia si el valor d'enfocament és més alt que els anteriors. Quan el procés d'enfocament ha finalitzat, la fotografia més enfocada es guardarà finalment a la memòria de la Raspberry Pi.

Excepcionalment, si en la fase 2 o 3 l'increment de valor d'enfocament és molt elevat, s'allunyarà la mostra de l'objectiu durant un instant per evitar saltar-se el punt d'enfocament.

Per finalitzar el procés d'enfocament, s'ha de determinar quan la fotografia ha estat enfocada, és a dir, si s'ha passat pel valor màxim d'enfocament de la funció. Es considera que la fotografia ja ha estat enfocada si alguna de les següents condicions es compleix:

- **Durant qualsevol fase, els últims tres valors d'increment siguin negatius i es redueixin més del 2%.** Amb aquesta condició s'assegura que el valor d'enfocament ha disminuït tres vegades seguides, determinant així que ja s'ha passat pel punt màxim d'enfocament. El marge del 2% s'afegeix per evitar les petites irregularitats de la funció d'enfocament.
- **Durant la fase 4, si el valor d'increment és negatiu i es redueix més del 20% o fa més de 4 iteracions que no s'assoleix un valor màxim d'enfocament.** Amb aquestes condicions "extres" es pretén que si després d'assolir el punt d'enfocament hi ha una reducció gran en el valor d'enfocament, vol dir que ja passat de llarg del punt d'enfocament.

Un cop s'ha determinat que la fotografia ha estat enfocada, es guarda a la memòria la fotografia amb el valor d'enfocament més alt i se separa la mostra de l'objectiu.

A continuació, es mostra el diagrama de flux del procés d'enfocament que representa tots els procediments descrits fins ara:

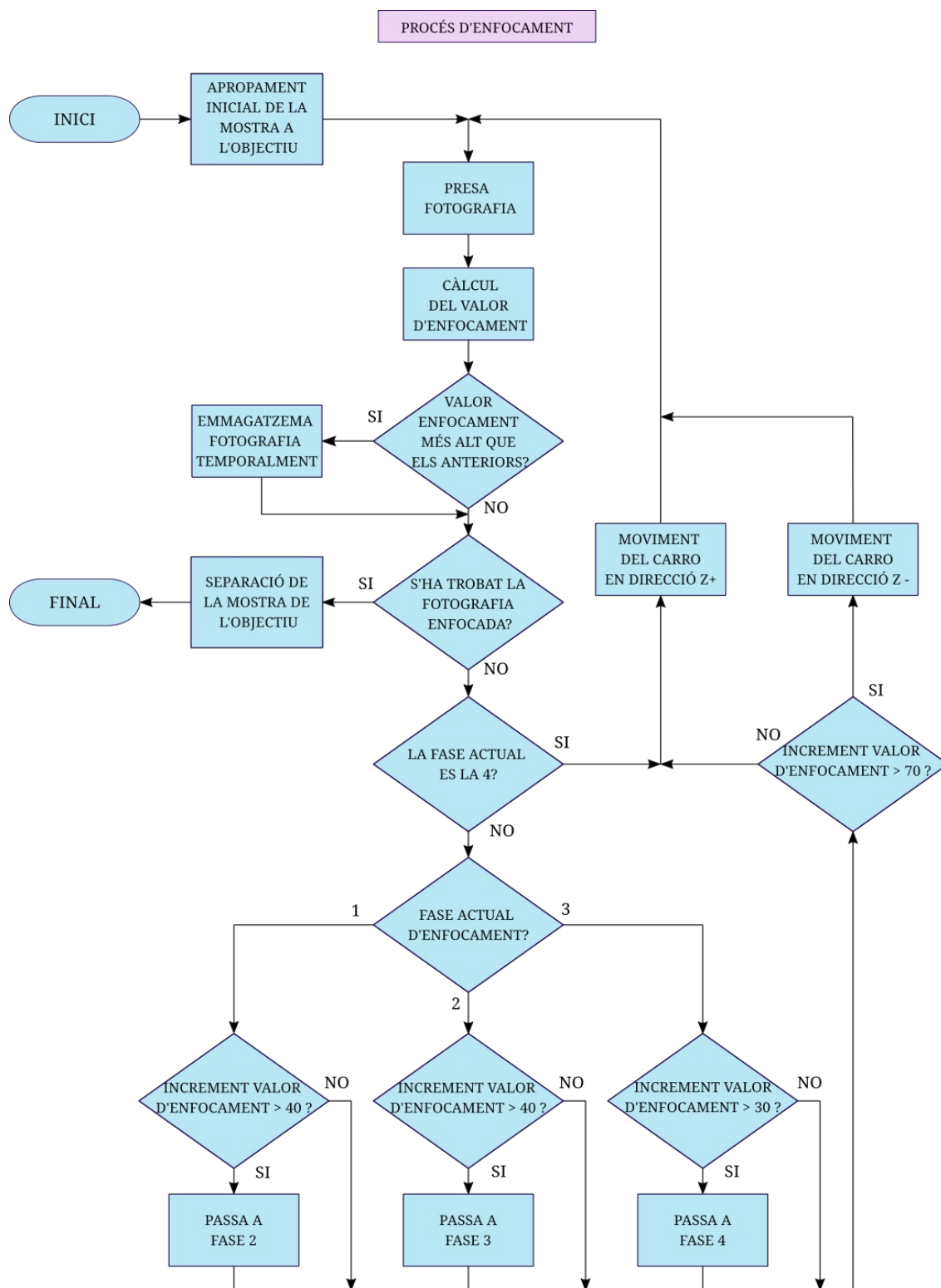


Figura 4.42. Diagrama de flux del procés d'enfocament.

Per dur a terme tot el procés d'enfocament, es necessitaran tres funcions pel programa principal del microscopi:

- Funció "Apropament mostra a l'objectiu": És la mateixa que s'ha utilitzat en l'apartat 4.5.2. *Inicialització i posicionament de la mostra*.
- Funció "Allunyament mostra de l'objectiu".
- Funció "Mètode d'enfocament".

■ Funció "Allunyament mostra de l'objectiu"

Paràmetres d'entrada: Cap.

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Allunya la mostra de l'objectiu fins a que el sensor fotoelèctric deixi de detectar el carro mòbil. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 10 de l'Annex A .

La funció mou el carro mòbil en la direcció Z per allunyar la mostra de l'objectiu. Quan el sensor fotoelèctric de proximitat deixi de detectar el carro, s'acabarà la funció.

■ Funció "Mètode d'enfocament"

Paràmetres d'entrada: Llista amb els valors de retall per les fotografies.

Paràmetres de sortida: Cap.

Descripció: Realitza tot el procés per enfocar la mostra i guardar la fotografia enfocada. La programació d'aquesta funció es troba a la pàgina 5 de l'Annex A .

Aquesta funció enfocarà la mostra seguint exactament el procés descrit en el diagrama de flux de la Figura 4.42. Al començament del procés d'enfocament, s'aproximarà la mostra a l'objectiu amb la funció **"Apropament mostra a l'objectiu"**.

A cada iteració del procés d'enfocament, es prendrà una fotografia de la mostra amb la funció **"Presa de la fotografia"** i l'analitzarà amb la funció **"Algoritme d'enfocament"**.

Abans d'analitzar-la amb l'algoritme d'enfocament, es passarà la fotografia a blanc i negre i es retallarà amb els valors de retall (paràmetre d'entrada).

A continuació, amb el valor d'enfocament i l'increment respecte de la fotografia anterior, es decidirà si es canvia de fase. Quan s'augmenti la fase, com ja s'ha comentat anteriorment, es reduirà el desplaçament per cada iteració.

Si es considera que la fotografia està enfocada, s'acaba la funció i es guarda la fotografia amb el valor d'enfocament més alt. A continuació, s'allunya la mostra de l'objectiu amb la funció "Allunyament mostra de l'objectiu".

4.5.6. Fase final

En finalitzar tot el procés d'obtenció d'imatges de la mostra, el carro mòbil es retorna fins a la posició inicial (X_0 , Y_0 , Z_0), utilitzant la funció "posició 0" ja explicada en l'apartat 4.5.2. *Inicialització i posicionament de la mostra*. D'aquesta manera, es facilita l'extracció de la mostra i es deixa el microscopi preparat per començar un nou procés.

La programació d'aquesta part es troba a la pàgina 12 de l'Annex A .

En la fase de posicionament inicial de la mostra també es trasllada el carro fins a la posició inicial, ja que si hi ha hagut un problema o s'ha interromput el procés automàtic, el microscopi ha de ser capaç de començar sempre en la mateixa posició.

5. RESULTATS

5.1. Introducció

En aquest apartat es resumiran els resultats obtinguts del desenvolupament del projecte. Es mostrarà el nou prototip del microscopi muntat. Es farà un resum del cost del material del nou prototip AIScope i les implicacions ambientals derivades del projecte.

També es mostraran les millores obtingudes en general i es proposaran futures millores a implementar a la següent versió del microscopi AIScope.

5.2. Prototip físic

En aquest apartat es mostren les fotografies del prototip final d'aquest projecte. Amb aquest prototip s'ha desenvolupat el nou programa que controla el procés automàtic d'obtenció de fotografies de la mostra.

En les següent fotografies es pot observar que a la lent ocular s'hi troba la càmera de la Raspberry Pi, aguantada amb un cartró i cinta adhesiva per fer les proves.

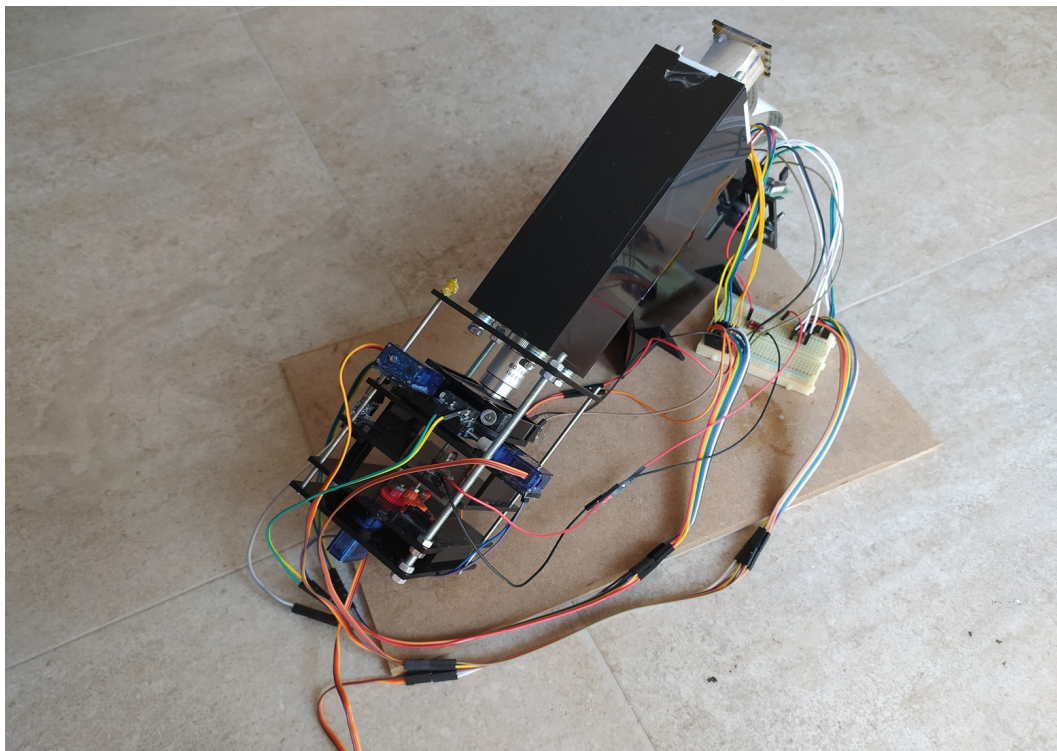


Figura 5.1. Fotografia 1 del nou prototip del microscopi AIScope.

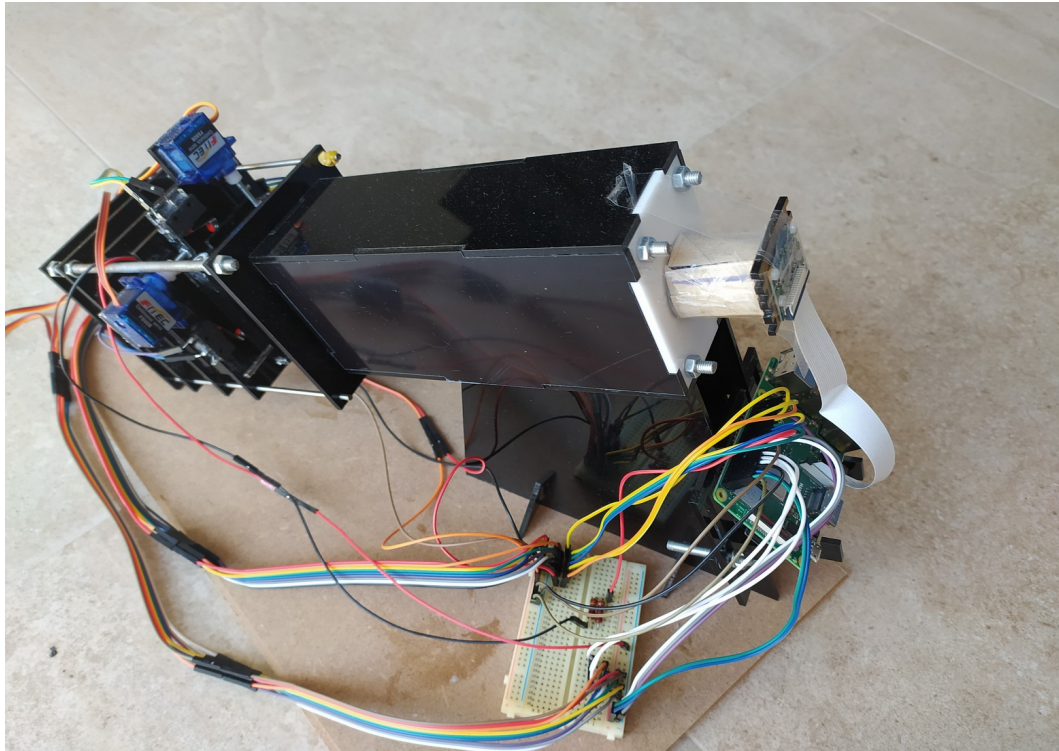


Figura 5.2. Fotografia 2 del nou prototip del microscopi AIScope.

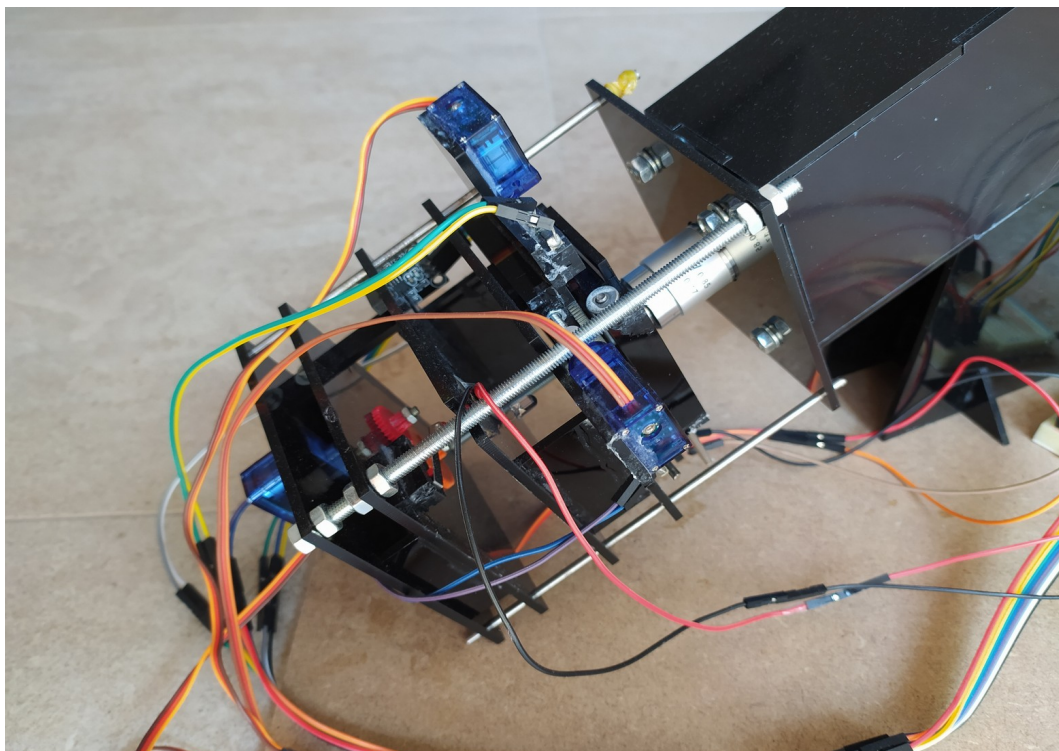


Figura 5.3. Fotografia 3 del nou prototip del microscopi AIScope.

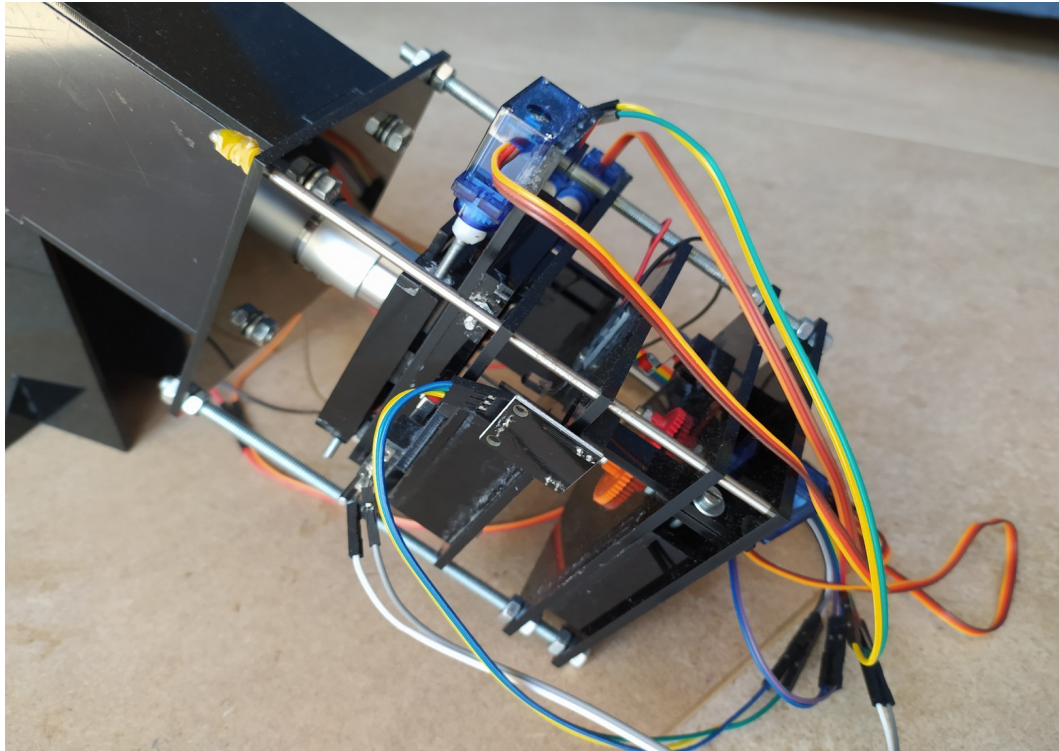


Figura 5.4. Fotografia de detall del sensor fotoelèctric.

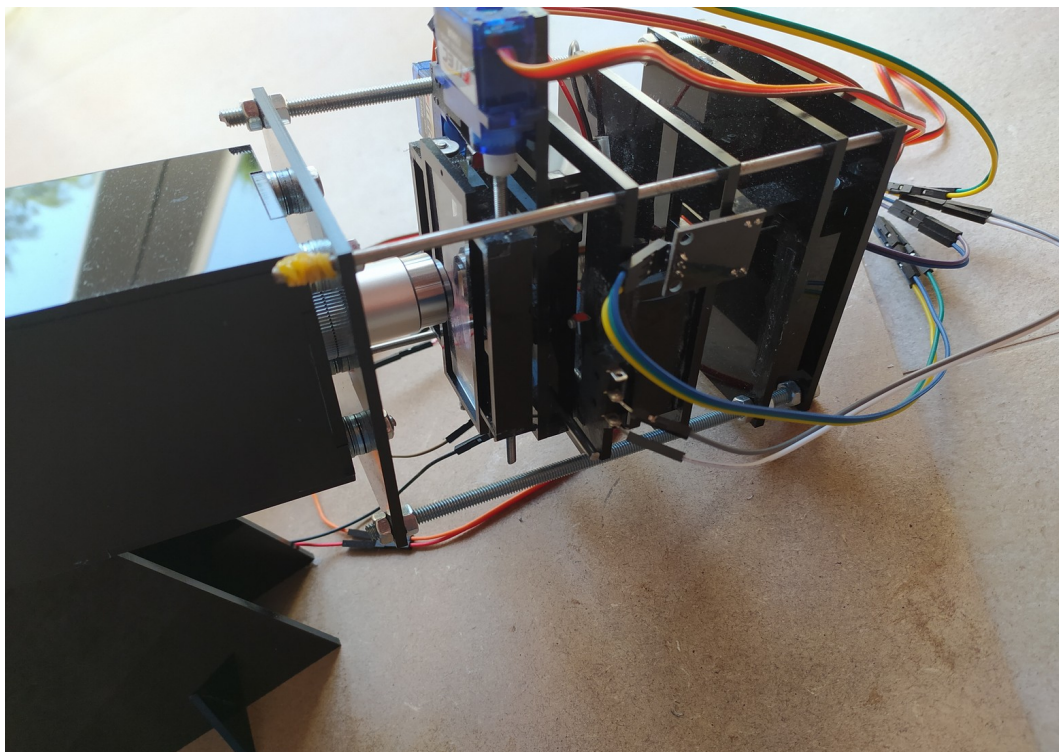


Figura 5.5. Fotografia de detall del sensor fotoelèctric.

5.3. Cost nou prototip de microscopi

En aquest apartat es mostra el resum del cost del material d'un microscopi AIScope. Per tenir més detalls sobre el pressupost en general, es pot consultar el document del Pressupost d'aquest projecte.

Material	Unitats	Cost/unitat	Cost total
Material mecànic			
Planxa metacrilat (600x500mm)	1	21,15 €	21,15 €
Vareta roscada DIN 975 M3 (1000mm)	1	1,50 €	1,50 €
Vareta roscada DIN 975 M5 (1000mm)	2	1,75 €	3,50 €
Vareta llisa alumini Ø3 (1000mm)	1	0,90 €	0,90 €
Femella hexagonal ISO 4036 M3	4	0,03 €	0,12 €
Femella hexagonal ISO 4036 M5	2	0,04 €	0,08 €
Femella autoblocant DIN 985 M3	4	0,06 €	0,24 €
Femella autoblocant DIN 985 M5	24	0,07 €	1,68 €
Femella de papallona soldada DIN 315 M5	2	0,10 €	0,20 €
Cargol allen, inox M3 x 10mm	1	0,04 €	0,04 €
Volandera Ø3	3	0,01 €	0,03 €
Lent ocular WF15X	1	10,29 €	10,29 €
Lent d'objectiu acromàtic, 60X 0,85	1	21,99 €	21,99 €
Planxa d'espuma Stratocell (dinA5)	1	1,65 €	1,65 €
Engranatge recte mòdul 0,5 D32Z	1	1,17 €	1,17 €
Engranatge recte mòdul 0,5 D46Z	1	1,17 €	1,17 €
Cost material mecànic			65,71 €
Material electrònic			
Sensor electromecànic	5	0,83 €	4,15 €
Sensor fotoelèctric	1	2,00 €	2,00 €
Raspberry Pi Zero W	1	9,00 €	9,00 €
Targeta micro SD 16GB	1	3,29 €	3,29 €
Servomotor de 360°	3	2,60 €	7,80 €
Connector M-M	2	0,15 €	0,30 €
Connector M-F	10	0,15 €	1,50 €
Connector F-F	3	0,15 €	0,45 €
LED	1	0,04 €	0,04 €
Resistència de 100 Ω	2	0,02 €	0,04 €
Cost material electrònic			28,57 €
Cost total material microscopi			94,28 €

Taula 5.1. Resum del cost total del nou prototip del microscopi AIScope.

L'anterior prototip tenia un cost de 75,57 €. El cost actual és de 94,28 €, un 25 % més respecte l'anterior prototip, però està per sota de 100 € i per tant encaixa dins els requeriments del projecte de l'apartat 1.3. *Requeriments del treball*. Així doncs, es considera que ha estat un augment necessari per incloure totes les noves millores.

Respecte a l'anterior prototip del microscopi, l'augment principal del cost ha estat per afegir els sensors amb un cost de 6,15 €. També ha augmentat el cost de forma considerable perquè el cost del metacrilat ha estat més alt, tot i que s'ha utilitzat pràcticament la mateixa àrea.

5.4. Millores obtingudes

5.4.1. Millora del temps d'enfocament

Un dels objectius principals d'aquest projecte és la reducció del temps per enfocar la mostra. Amb això es vol aconseguir agilitzar el procés automàtic d'obtenció de fotografies. Gràcies a totes les millores del programa s'ha aconseguit reduir a la meitat el temps de cada iteració del procés d'enfocament:

Comparativa de la duració mitjana d'una iteració del procés d'enfocament (s)

Fase	Prototip anterior	Nou prototip microscopi
Presa de la fotografia	0,723 *	0,422
Càlculs algoritme	0,185	0,055
Moviment correctiu del servomotor en l'eix Z	0,1	0,035
Temps total (per iteració)	1,008	0,512

*suma de les subfases 2.3.1. i 2.3.2. de la Taula 2.4.

Taula 5.2. Comparativa de la duració mitjana d'una iteració.

El temps per prendre la fotografia s'ha reduït considerablement respecte de l'anterior model del microscopi. L'algoritme és més ràpid perquè processa les fotografies retallades i el moviment correctiu és més eficient perquè el servomotor gira a una velocitat més alta.

Amb el nou mètode d'enfocament s'ha mantingut la mitjana d'iteracions per enfocar, però no s'ha aconseguit reduir. El sensor de proximitat ha ajudat a fer les mínimes iteracions, ja que permet apropar la mostra a l'objectiu de forma precisa a l'inici del procés d'enfocament. Com que s'ha mantingut el nombre d'iteracions i s'ha reduït la duració de cada una a la meitat, s'ha aconseguit reduir el temps del procés d'enfocament:

Comparativa de la duració del procés d'enfocament		
Fase	Prototip anterior	Nou prototip microscopi
Mitjana del temps per enfocar	20,16 s	12,93 s
Mitjana d'iteracions	20 iteracions	23 iteracions

Taula 5.3. Comparativa de la duració del procés d'enfocament.

La mitjana de temps per enfocar la mostra s'ha reduït 7 segons, el qual permet enfocar més fotografies per minut. En l'anterior taula s'ha considerat que la mitjana d'iteracions de l'anterior model del microscopi és de 20, per tal de fer la comparació amb el nou procés d'enfocament (vegeu explicació a l'apartat 2.4.3. *Operacions crítiques del programa actual*).

Com que la duració del procés d'enfocament afecta en gran manera al procés total del microscopi, s'ha realitzat una prova de tot el procés per enfocar i obtenir 40 fotografies:

Comparativa de la duració del procés d'obtenció de 40 fotografies (min)		
Fase	Prototip anterior	Nou prototip microscopi
Fase Inicial	0,29	0,69
Procés d'obtenció de fotografies	16,22	8,75
Fase final	0,27	0,61
Temps total	16,78	10,06

Taula 5.4. Comparativa de la duració del procés d'obtenció de fotografies.

La fase inicial i la fase final han augmentat lleugerament la seva duració respecte del model anterior del microscopi, però el temps més llarg segueix sent el procés d'obtenció d'imatges. El temps total del procés d'obtenció de fotografies de la mostra s'ha reduït gairebé a la meitat.

5.4.2. Millora del mètode d'enfocament de la mostra

L'anterior mètode d'enfocament del microscopi no aconseguia enfocar la mostra, a part dels problemes comentats en l'apartat 2.4.2. *Problemes presentats del prototip actual*. Tots aquests problemes s'han solucionat amb el nou mètode d'enfocament, el qual permet enfocar tots els punts de la mostra amb precisió.

El mètode per determinar si la fotografia està enfocada o no, serveix per a qualsevol mostra i no està basat en un valor arbitrari. A més, s'ha limitat el procés d'enfocament a un màxim de 35 iteracions, de tal manera que si una fotografia costa molt d'enfocar, no s'allargui en excés el procés d'obtenció de les fotografies de la mostra.

Tot i això, el mètode d'enfocament actual falla algunes vegades i enfoca correctament el 80% de les fotografies de la mostra. Això és degut a diferents factors del microscopi, els quals es comentaran a l'apartat 5.6. *Futures millores pel microscopi AIScope*. No obstant això, el nou mètode d'enfocament té un comportament més constant a l'hora d'enfocar, ja que està basat en uns altres principis que el de l'anterior model del microscopi. Encara s'ha de millorar més el mètode d'enfocament en les següents iteracions del microscopi, juntament amb el disseny del microscopi i el moviment del carro mòbil.

5.4.3. Altres millores

El nou microscopi sempre comença el procés en el mateix punt. Gràcies als sensors, és possible conèixer la posició inicial del carro mòbil, per tant el procés d'obtenció d'imatges sempre comença en el mateix punt inicial. Quan hi ha algun problema a la meitat d'un procés, el microscopi és capaç de començar de nou sense que cap persona hagi de calibrar la posició inicial.

Els sensors també han limitat el moviment del carro mòbil, de tal manera que es protegeixen els mateixos components del microscopi perquè el carro mòbil no es pot desplaçar més enllà de la seva zona d'operació.

Aquestes millores fan que el nou model del microscopi AIScope sigui més automàtic i s'evitin futurs problemes, ja que és més improbable que es faci malbé.

5.5. Implicacions Ambientals del projecte

L'impacte ambiental d'aquest projecte ve determinat pels materials i la fabricació del microscopi AIScope. Principalment es veurà com incideix en el medi ambient el muntatge, l'ús i la disposició dels materials un cop s'acaba la vida útil del microscopi o dels seus components.

5.5.1. Muntatge

Previ al muntatge, s'ha fet el tall làser de les peces de metacrilat. El tall làser és una tecnologia que no genera residus i consumeix poca electricitat (25). Si no es pot usar aquesta tecnologia, també es pot fer el tall de les peces amb eines manuals.

En el muntatge es fan servir materials que no presenten un perill per la persona que construeix el microscopi ni per l'ecosistema. Les eines que es necessiten per construir-lo tampoc presenten cap perill, ja que es fa amb eines manuals no automàtiques (tornavís, clau fixa, etc.).

5.5.2. Ús del microscopi

El microscopi està compost principalment de metacrilat i acer per l'estructura i components electrònics. Cap d'aquests materials utilitzats és contaminant ni genera residus durant la seva vida útil.

Durant l'ús del microscopi es consumeix electricitat per alimentar la placa Raspberry Pi, els sensors, els servomotors i el LED. El consum elèctric dels sensors final de carrera i el LED és

baix, sent la placa Raspberry Pi la que té el consum de corrent més alt de tots els components (230 mA / 1,19 W) (26). El consum màxim de tots els pins d'entrada i sortida és de 51 mA (5 V DC) / 0,26 W. (27)

Si es compara aquest consum amb un ordinador convencional, aquests últims solen tenir un consum mitjà de 220 W (28), és a dir, que el microscopi té un consum molt baix per a la tasca que realitza.

5.5.3. Fi de la vida útil dels materials

El metacrilat és un material que es pot reciclar fàcilment (29). En el cas que el microscopi estigui en mal estat o s'hagin deteriorat els seus components, les planxes de metacrilat útils es poden reutilitzar o tornar a tallar per fer altres peces més petites per un nou microscopi AIScope.

L'acer també és un material fàcil de reciclar, gràcies a les seves propietats magnètiques les quals permeten separar-lo d'altres residus i al procés senzill de reciclat (30).

El reciclatge dels components electrònics resulta una tasca més difícil respecte els materials anteriors, però es poden reciclar. Com que es componen de molts materials diferents, si no es reciclen bé aquests materials acaben en països subdesenvolupats, on representen un risc pel medi ambient i per les persones, ja que no se sol tractar de forma adequada (31).

Tot i això, els cinc sensors de final de carrera utilitzats en aquest microscopi són simples i només estan formats per un material conductor i la carcassa, la qual és de plàstic reciclable. La placa Raspberry Pi i el sensor fotoelèctric requereix un procediment més complex de reciclat, ja que estan compostos per diferents materials. Si el microscopi no es pot utilitzar a causa d'un problema de l'estructura, tots els materials electrònics es poden reutilitzar per un nou microscopi.

5.6. Futures millores pel microscopi AIScope

En el nou prototip del microscopi s'ha millorat el sistema d'enfocament i l'automatització del procés d'obtenció de fotografies de la mostra. No obstant això, s'ha de seguir millorant el mètode d'enfocament perquè no és un model final, així com d'altres problemes que presenta el microscopi.

A continuació es descriuen els diferents aspectes que s'han de millorar del microscopi del projecte AIScope. Es dividiran en tres grups: aspectes mecànics, aspectes electrònics i aspectes de programació.

Les millores mecàniques que s'han de fer en un futur al microscopi són les següents:

- **Sistema de desplaçament del carro mòbil en l'eix Z:** El carro mòbil no es trasllada en l'eix Z de forma constant i la mostra no està del tot perpendicular a l'eix de l'objectiu. Aquests problemes fan més difícil l'enfocament de la mostra. Per tant, s'ha de fer una tasca de redisseny del carro mòbil per fer que el desplaçament sigui més precís i suau, alhora que garantir que la mostra està perpendicular a l'objectiu en tot moment.
- **Sistema de desplaçament del carro mòbil horitzontal:** Quan el carro mòbil es trasllada horitzontalment (eixos X i Y) fa un lleuger moviment oscil·latori en l'eix Z (la mostra es mou amunt i avall mentre es mou horitzontalment). Aquest petit desplaçament fa que a vegades el sistema d'enfocament no enfoqui bé perquè comença massa a prop o lluny de l'objectiu. Així doncs, s'ha de millorar el sistema o canviar la forma de desplaçar el carro mòbil horitzontalment.
- **Guia del sensor de proximitat:** Per fer l'ajust de la guia de tal manera que la mostra es pugui apropar a l'objectiu és difícil. S'hauria de millorar la subjecció de la guia i fer més fàcil la manera d'ajustar-la. Fins i tot, es podria fer que la guia fos fixa de tal manera que no tingui cap mena d'ajust.
- **Estructura i muntatge del microscopi:** El muntatge del microscopi actual és delicat. S'hauria de fer una millora en general de totes les peces del microscopi per facilitar-ne el muntatge. Aquest redisseny hauria de tenir en compte l'estructura perquè el prototip és poc robust.

Les millores pel que fa a l'electrònica són les següents:

- **Il·luminació de la mostra:** Actualment s'il·lumina la mostra directament amb un díode LED. S'hauria de millorar de tal manera que permetés observar la mostra en detall i que estigui ben contrastada. El sistema d'enfocament podrà enfocar amb més precisió si la mostra està il·luminada correctament. A part d'això, el sistema d'il·luminació ha de quedar integrat al microscopi.
- **Contactes elèctrics:** En el nou prototip del microscopi els contactes dels sensors queden exposats. S'haurien de protegir aquests contactes de tal manera que no es puguin fer malbé els sensors o la placa Raspberry Pi i sigui més segur per les persones que l'han de manipular.
- **Ubicació Raspberry Pi i cablejat:** S'ha d'integrar la placa Raspberry Pi dins el microscopi, així com millorar la distribució del cablejat dels sensors, els servomotors i el sistema d'il·luminació.

Les millores pel que fa a la programació són les següents:

- **Mètode d'enfocament:** Tots els paràmetres que s'han utilitzat per al mètode d'enfocament es poden ajustar millor de tal manera que l'enfocament sigui encara més ràpid i precís. Per falta de temps en aquest projecte no s'ha pogut millorar el mètode d'enfocament en la seva plenitud. Per fer aquestes millores de cara al model final del microscopi AIScope, s'haurien d'utilitzar mostres de sang humana. D'aquesta manera s'afinaria millor el mètode d'enfocament pel cas real.
- **Aplicació AIScope:** En aquest projecte s'ha utilitzat la càmera de la Raspberry Pi per fer totes les proves, però el disseny final del microscopi utilitzarà un mòbil intel·ligent per realitzar totes les fotografies de la mostra. S'ha de dissenyar una aplicació pel mòbil intel·ligent que adapti tot el programa actual i que es comuniqui amb la placa Raspberry Pi, per poder actuar sobre els servomotors i llegir la informació dels sensors.

A continuació es proposa la planificació i programació de les futures millores del microscopi AIScope, amb una duració d'un any:

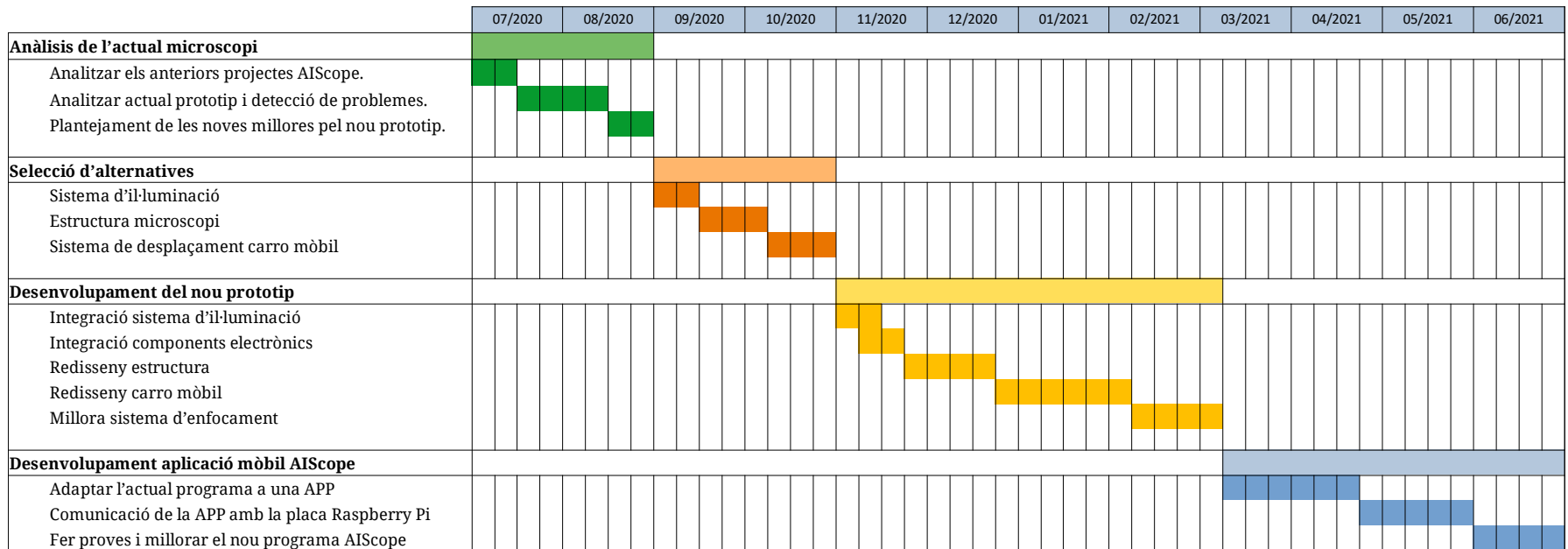


Figura 5.6. Diagrama de Gantt proposat per les futures millores del microscopi AIScope.

6. CONCLUSIONS

L'objectiu principal d'aquest projecte era millorar el sistema d'enfocament del microscopi AIScope. Després de desenvolupar les solucions proposades, el microscopi és capaç d'enfocar tota la mostra de forma més precisa, a una velocitat superior a l'anterior model. L'ús de sensors i la millora del procés d'enfocament han fet possible l'assoliment dels objectius del projecte.

El cost del nou microscopi AIScope s'ha aconseguit mantenir per sota dels 100 euros després d'afegir els nous components, el qual era un dels requeriments bàsics d'aquest projecte. Els nous sensors i components utilitzats són estàndard i fàcils de trobar, ja que són senzills, de baix cost i àmpliament utilitzats.

Com a objectiu secundari s'ha millorat la resta del procés d'obtenció d'imatges de la mostra a partir d'utilitzar sensors. Aquests sensors s'han utilitzat per conèixer la posició del carro mòbil amb la mostra, la qual cosa permet automatitzar el microscopi de tal manera que sigui més autònom; i no només això, sinó que es protegeixen els mateixos components del microscopi.

La millora del sistema d'enfocament del microscopi vol aconseguir que el temps per fer un diagnòstic d'una mostra de sang sigui ràpid i efectiu. La malària afecta amb contundència als països que no tenen recursos, per tant el projecte AIScope vol ser una ajuda en aquest problema que afecta tants individus. Si el diagnòstic és ràpid i es fa preventivament, la societat afectada per aquesta malaltia podrà respondre adequadament.

Aquest projecte vol servir de punt de partida de les següents iteracions del microscopi AIScope, el qual s'ha de seguir desenvolupant i millorant en tots els seus aspectes. Els objectius d'aquest projecte s'han assolit, però el disseny actual presenta diversos problemes i aspectes potencialment millorables per tal d'apropar-se més al disseny final del microscopi.

7. BIBLIOGRAFIA

- (1) Organización Mundial de la Salud. "Paludismo" [en línia]. 2018. [Consulta: 25 febrer 2020]. Disponible a: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>.
- (2) ELMUNDO. "África, foco de la malaria" [en línia]. 2016. [Consulta: 12 març 2020]. Disponible a: <https://www.elmundo.es/salud/2016/04/24/571cf489ca4741e53d8b45dd.html>.
- (3) AI SCOPE. "AI AGAINST GLOBAL DISEASES" [en línia]. 2020. [Consulta: 12 març 2020]. Disponible a: <https://aiscope.net>.
- (4) Martorell Sastre, J.A. *Estudio y diseño de un microscopio low-cost para la detección a bajo coste de infecciones en las muestras de sangre* [en línia]. Treball final de grau, UPC, Escola Superior d'Enginyeries Industrial, Aeroespacial i Audiovisual de Terrassa, 2019. [Consulta: 21 febrer 2020]. Disponible a: [https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1532259__Sjoana aina martorell__Orighresult__U__X2?lang=cat](https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1532259__Sjoana%20aina%20martorell__Orighresult__U__X2?lang=cat).
- (5) Fernández Martínez, A. *Project of low-cost microscope automation for data gathering* [en línia]. Treball final de grau, UPC, Escola Superior d'Enginyeries Industrial, Aeroespacial i Audiovisual de Terrassa, 2019. [Consulta: 25 febrer 2020]. Disponible a: [https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1528865__Sariadna fernandez__Orighresult__U__X2?lang=cat](https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1528865__Sariadna%20fernandez__Orighresult__U__X2?lang=cat).
- (6) Arrabal López, A. *Projecte de millora d'un microscopi de baix cost* [en línia]. Treball final de grau, UPC, Escola Superior d'Enginyeries Industrial, Aeroespacial i Audiovisual de Terrassa, 2020. [Consulta: 18 febrer 2020]. Disponible a: [https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1534287__Sarrabal__Ff:facetmediatype:2:2:TFGLw==PFMLw==Tesina:__:Ff:facetmediatype:3:3:TFGLw==PFMLw==Tesina en línia:__:Orighresult__U__X4?lang=cat](https://discovery.upc.edu/iii/encore/record/C__Rb1534287__Sarrabal__Ff:facetmediatype:2:2:TFGLw==PFMLw==Tesina:__:Ff:facetmediatype:3:3:TFGLw==PFMLw==Tesina%20en%20línia:__:Orighresult__U__X4?lang=cat).
- (7) Fisicalab. "El Microscopio" [en línia]. [Consulta: 24 abril 2020]. Disponible a: <https://www.fisicalab.com/apartado/microscopio#contenidos>.
- (8) FOTOSMEDIA. "Explicación de los modos de enfoque automático". A: [en línia]. 2020. [Consulta: 19 abril 2020]. Disponible a: <https://fotosmedia.net/explicacion-de-los-modos-de-enfoque-automatico/>.
- (9) DOVERMOTION. "Microscope Calculations" [en línia]. 2019. [Consulta: 18 abril 2020]. Disponible a: <https://dovermotion.com/applications-capabilities/automated-imaging/microscope-calculations/>.
- (10) Groen, F.C.A., Young, I.T. i Ligthart, G. A comparison of different focus functions for use in autofocus algorithms. A: *Cytometry*. 1985, Vol. 6, núm. 2. ISSN 10970320. DOI 10.1002/cyto.990060202.
- (11) Boddeke, F.R. et al. Autofocusing in microscopy based on the OTF and sampling. A: *Bioimaging*. 1994, Vol. 2, núm. 4, p. 193-203. ISSN 13616374. DOI 10.1002/1361-6374(199412)2:4<193::AID-BIO4>3.3.CO;2-C.

- (12) Sun, Y., Duthaler, S. i Nelson, B.J. Autofocusing in computer microscopy: Selecting the optimal focus algorithm. A: *Microscopy Research and Technique*. 2004, Vol. 65, núm. 3. ISSN 1059910X. DOI 10.1002/jemt.20118.
- (13) Vive la naturaleza. "El sensor digital" [en línia]. [Consulta: 18 abril 2020]. Disponible a: <http://www.vivelanaturaleza.com/articulo-sensor-digital.php>.
- (14) Blog del fotografo. "CÓMO LEER EL HISTOGRAMA DE TUS FOTOGRAFÍAS" [en línia]. 2015. [Consulta: 20 abril 2020]. Disponible a: <https://www.blogdelfotografo.com/histograma/>.
- (15) A'lvarez-Borrego, J. Fast autofocus algorithm for automated microscopes. A: *Optical Engineering*. 2005, Vol. 44, núm. 6. ISSN 0091-3286. DOI 10.1117/1.1925119.
- (16) GIMP. "Matriz de convolución" [en línia]. [Consulta: 21 abril 2020]. Disponible a: <https://docs.gimp.org/2.8/es/plugin-convmatrix.html>.
- (17) PrototipadoLAB. "Qué es un sensor? Tipos y diferencias" [en línia]. 2018. [Consulta: 30 abril 2020]. Disponible a: <http://paolaguimerans.com/openheart/2018/05/05/que-son-los-sensores/>.
- (18) Seedstudio. "Types of Distance Sensor and how to select one?" [en línia]. 2019. [Consulta: 3 maig 2020]. Disponible a: <https://www.seedstudio.com/blog/2019/12/23/distance-sensors-types-and-selection-guide/>.
- (19) Seedstudio. "All about Proximity Sensors: Which type to use?" [en línia]. 2019. [Consulta: 3 maig 2020]. Disponible a: <https://www.seedstudio.com/blog/2019/12/19/all-about-proximity-sensors-which-type-to-use/>.
- (20) Keller Technology. "7 Types of Sensors for Object Detection" [en línia]. 2018. [Consulta: 4 maig 2020]. Disponible a: <https://www.kellertechnology.com/blog/7-types-of-sensors-for-object-detection/>.
- (21) MecatrónicaLATAM. "SENSORES" [en línia]. [Consulta: 5 maig 2020]. Disponible a: <https://www.mecatronicalatam.com/es/tutoriales/sensores/>.
- (22) Predictable Designs. "Introduction to Object Detection and Ranging Technologies". [en línia]. 2019. [Consulta: 2 maig 2020]. Disponible a: <https://predictabledesigns.com/introduction-to-object-detection-and-ranging-technologies/>.
- (23) Mundo Microscopio. "Portaobjetos para microscopio". [en línia]. [Consulta: 7 abril 2020]. Disponible a: <https://www.mundomicroscopio.com/portaobjetos/>.
- (24) Keyence. "¿Qué es un sensor fotoeléctrico?" [en línia]. [Consulta: 21 maig 2020]. Disponible a: <https://www.keyence.com.mx/ss/products/sensor/sensorbasics/photoelectric/info/>.
- (25) Trotec. "¿Qué consumo de energía tiene una máquina láser?" [en línia]. [Consulta: 14 juny 2020]. Disponible a: <https://www.troteclaser.com/es/faqs/consumo-energia-laser/>.
- (26) Redes Zone. "Esta es la energía que consume cada modelo de Raspberry Pi, incluido el nuevo Raspberry Pi Zero W" [en línia]. 2017. [Consulta: 14 juny 2020]. Disponible a: <https://www.redeszone.net/2017/03/02/energia-consumida-raspberry-pi/>.

- (27) The Box. "Understanding Outputs" [en línia]. [Consulta: 14 juny 2020]. Disponible a: http://www.thebox.myzen.co.uk/Raspberry/Understanding_Outputs.html.
- (28) Gana Energia. "¿Qué consumo nos supone utilizar el ordenador?" [en línia]. 2018. [Consulta: 15 juny 2020]. Disponible a: <https://ganaenergia.com/blog/que-consumo-nos-supone-utilizar-el-ordenador/>.
- (29) Laser Project. "QUÉ ES EL METACRILATO Y QUE UTILIDADES NOS PUEDE OFRECER" [en línia]. [Consulta: 15 juny 2020]. Disponible a: <https://www.laserproject.es/metacrilato-utilidades-nos-puede-ofrecer/>.
- (30) Reciclario. "Acero" [en línia]. [Consulta: 15 juny 2020]. Disponible a: <http://reciclario.com.ar/indice/metales-y-aleaciones/acero/>.
- (31) OMPI. "Los desechos electrónicos y la innovación: aprovechar su valor oculto" [en línia]. [Consulta: 16 juny 2020]. Disponible a: https://www.wipo.int/wipo_magazine/es/2014/03/article_0001.html.
- (32) Mark Anderson. "Foldscope: A Paper Microscope You Can Attach to Your Smartphone." [Fotografia] A: IEEE Spectrum [en línia]. 2018. [Consulta: 22 febrer 2020]. Disponible a: <https://spectrum.ieee.org/geek-life/tools-toys/foldscope-a-paper-microscope-you-can-attach-to-your-smartphone/>.
- (33) AIScope. "Microscopi AIScope" [Fotografia]. 2020. [Consulta: 12 març 2020]. Disponible a: <https://aiscope.net>.
- (34) Lifeder. "Partes de un microscopio óptico" [Il·lustració]. 2019. [Consulta: 23 abril 2020]. Disponible a: <https://www.lifeder.com/partes-microscopio-optico/>.
- (35) FISCALAB, "El Microscopio" [Il·lustració]. [Consulta: 24 abril 2020]. Disponible a: <https://www.fiscalab.com/apartado/microscopio#contenidos>.
- (36) Ghalfacee. "Raspberry Pi 3 B+" [Fotografia]. [Consulta: 3 abril 2020]. Disponible a: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/>
- (37) DOVER MOTION. "Microscope Calculations" [Il·lustració]. 2019. [Consulta: 18 abril 2020]. Disponible a: <https://dovermotion.com/applications-capabilities/automated-imaging/microscope-calculations/>.
- (38) Vive la naturaleza. "El sensor digital" [Fotografia]. [Consulta: 18 abril 2020]. Disponible a: <http://www.vivelanaturaleza.com/articulo-sensor-digital.php>.
- (39) Brandon Rohrer. "How to Convert an RGB image to Grayscale" [Il·lustració]. 2019. [Consulta: 18 abril 2020]. Disponible a: https://brohrer.github.io/convert_rgb_to_grayscale.html.
- (40) Arduproject. "Medir distancia con Arduino y sensor de ultrasonidos HC-SR04" [Fotografia]. 2018. [Consulta: 16 maig 2020]. Disponible a: <https://arduproject.es/medir-distancia-con-arduino-y-sensor-de-ultrasonidos-hc-sr04/>.
- (41) Iberrobotics. "Final de Carrera con Rueda" [Fotografia]. [Consulta: 18 maig 2020]. Disponible a: <https://www.iberrobotics.com/producto/final-carrera-rueda-5a-250vac-1-conmutado/>.

- (42) BricoGeek. "Fotointerruptor" [Fotografia]. [Consulta: 19 maig 2020]. Disponible a: https://tienda.bricogeek.com/componentes/39-fotointerruptor-cnz1120.html?search_query=sensor&results=173.
- (43) Raspberry Pi Foundation. "Camera Module V2" [Fotografia]. [Consulta: 20 maig 2020]. Disponible a: <https://www.raspberrypi.org/products/camera-module-v2/>.
- (44) Raspberry Pi HQ. "Using a push button with Raspberry Pi GPIO". [Il·lustració]. 2018. [Consulta: 20 maig 2020]. Disponible a: <https://raspberrypihq.com/use-a-push-button-with-raspberry-pi-gpio/>.
- (45) Mundo Microscopio. "Portaobjetos para microscopio" [Il·lustració]. [Consulta: 7 abril 2020]. Disponible a: <https://www.mundomicroscopio.com/portaobjetos/>.
- (46) Keyence. "¿Qué es un sensor fotoeléctrico?" [Il·lustració]. [Consulta: 21 maig 2020]. Disponible a: <https://www.keyence.com.mx/ss/products/sensor/sensorbasics/photoelectric/info/>.
- (47) NumPy. "NumPy" [en línia]. 2020. [Consulta: 30 maig 2020]. Disponible a: <https://numpy.org/>.
- (48) OpenCV-Python Tutorials. "OpenCV-Python Tutorials" [en línia]. 2013. [Consulta: 1 juny 2020]. Disponible a: https://opencv-python-tutroals.readthedocs.io/en/latest/py_tutorials/py_tutorials.html.
- (49) Raspi.tv. "RPI.GPIO basics 6 – Using inputs and outputs together with RPI.GPIO – pull-ups and pull-downs" [en línia]. 2013. [Consulta: 2 juny 2020]. Disponible a: <https://raspi.tv/2013/rpi-gpio-basics-6-using-inputs-and-outputs-together-with-rpi-gpio-pull-ups-and-pull-downs>.
- (50) Raspberry Pi HQ. "Using a push button with Raspberry Pi GPIO" [en línia]. 2018. [Consulta: 20 maig 2020]. Disponible a: <https://raspberrypihq.com/use-a-push-button-with-raspberry-pi-gpio/>.
- (51) Python. "The Python Tutorial" [en línia]. 2020. [Consulta: 1 juny 2020]. Disponible a: <https://docs.python.org/2/tutorial/inputoutput.html>.
- (52) ThePiHut. "Turning on an LED with your Raspberry Pi's GPIO Pins" [en línia]. 2015. [Consulta: 3 juny 2020]. Disponible a: <https://thepihut.com/blogs/raspberry-pi-tutorials/27968772-turning-on-an-led-with-your-raspberry-pis-gpio-pins>.
- (53) TheAILearner. "Add different noise to an image" [en línia]. 2019. [Consulta: 3 juny 2020]. Disponible a: <https://theailearner.com/2019/05/07/add-different-noise-to-an-image/>.
- (54) Stack Exchange. "Take images in a short time using the Raspberry Pi camera module" [en línia]. 2015. [Consulta: 4 juny 2020]. Disponible a: <https://raspberrypi.stackexchange.com/questions/22040/take-images-in-a-short-time-using-the-raspberry-pi-camera-module>.
- (55) PiCamera. "PiCamera" [en línia]. 2016. [Consulta: 5 juny 2020]. Disponible a: <https://picamera.readthedocs.io/en/release-1.13/>.
- (56) Python Central. "Measure Time in Python" [en línia]. 2018. [Consulta: 7 juny 2020]. Disponible a: <https://www.pythoncentral.io/measure-time-in-python-time-time-vs-time-clock/>.